(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 447 375**

(51) Int. Cl.:

C12P 5/00 (2006.01)
C12P 7/00 (2006.01)
C12P 7/08 (2006.01)
C12P 7/12 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.12.2009 E 09774846 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2013 EP 2376642**

(54) Título: **Conversión de biomasa lignocelulósica por medio de tratamiento previo con sulfito**

(30) Prioridad:

17.12.2008 EP 08021952
17.12.2008 US 138378 P
22.10.2009 EP 09013355

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.03.2014

(73) Titular/es:

BORREGAARD AS (100.0%)
Hjalmar Wessels vei 10
1721 Sarpsborg , NO

(72) Inventor/es:

SJÖDE, ANDERS;
FRÖLANDER, ANDERS;
LERSCH, MARTIN y
RØDSRUD, GUDBRAND

(74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 447 375 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

Conversión de biomasa lignocelulósica por medio de tratamiento previo con sulfito

La presente invención se refiere a un proceso para la producción de biocombustibles de segunda generación y / o productos químicos a base de azúcar - por ejemplo, etanol, butanol, etc. - y / o materiales - por ejemplo plásticos, proteínas de las células individuales, etc. - junto con lignina sulfonada (lignosulfonato) a partir de biomasa lignocelulósica, en particular, a partir de biomasa lignocelulósica que comprende, entre otros, cultivos energéticos, plantas anuales, residuos agrícolas o de madera.

En particular, la presente invención se refiere a un proceso para la producción de monosacáridos, productos químicos a base de azúcar, biocombustibles o materiales junto con lignina sulfonada a partir de biomasa lignocelulósica que comprende al menos los siguientes pasos:

(i) el pretratamiento de una biomasa lignocelulósica en una etapa de cocción con sulfito,

(ii) la separación de la biomasa lignocelulósica pretratada de la etapa (i) en

(a) una fase líquida de "licor residual con sulfito" que comprende 60% o más de la lignina de la biomasa lignocelulósica en forma de lignina sulfonada, y en

(b) una pulpa que comprende 70% o más de la celulosa de la biomasa lignocelulósica;

(iii) la hidrólisis de la pulpa (b) de la etapa (ii) en una plataforma química de los azúcares que comprende monosacáridos;

(iv) opcionalmente el procesamiento adicional de los monosacáridos de la etapa (iii) que resulta en productos químicos útiles, biocombustibles y / o proteínas; y

(v) la conversión directa o procesamiento adicional de la lignina sulfonada de la fase líquida (a) de la etapa (ii) en productos químicos y / o materiales útiles,

en donde la etapa de hidrólisis (iii) es una etapa de hidrólisis enzimática.

Antecedentes y estado del arte

Como es generalmente aceptado, los recursos para los productos químicos derivados del petróleo y para el petróleo utilizado como combustible (fósil) son limitados. Un recurso alternativo utilizado en la actualidad es el "biocombustible", como el obtenido a partir de biomasa. Se pueden utilizar diversas fuentes de biomasa.

"Los biocombustibles de primera generación" son los biocombustibles obtenidos a partir de azúcar, almidón, aceite vegetal o grasas animales utilizando tecnología convencional. Ejemplos de materias primas básicas para la producción de biocombustibles de primera generación son las semillas o granos tales como el trigo, que producen almidón que se hidroliza y se fermenta en etanol, o semillas de girasol, que se comprimen para producir aceite vegetal que se puede transformar en biodiesel. Sin embargo, estas materias primas podían en vez de eso entrar en la cadena alimenticia de animales o humanos. Por lo tanto, los biocombustibles de primera generación han sido criticados por desviar alimentos fuera de la cadena alimentaria humana, dando lugar a la escasez de alimentos y aumentos de precios.

Por el contrario, "los biocombustibles de segunda generación" se puede producir de forma sostenible mediante el uso de la biomasa formada por partes no comestibles residuales (es decir, no digeribles) de los cultivos actuales, tales como tallos, hojas, bagazo (residuo de fibra de la caña de azúcar), cáscaras, etc. que quedan atrás una vez que se ha extraído el cultivo alimenticio, así como otras materias primas que no se utilizan con fines alimentarios (cultivos no alimentarios), tales como madera, plantas anuales y cereales que se componen de grano pequeño, y los residuos de la industria tales como aserrín, cáscara y pulpa proveniente del prensado de la fruta, del procesamiento de vino, etc.

Un problema común en la producción de biocombustibles de segunda generación a partir de biomasa es la extracción de la materia prima fermentable, a partir de la biomasa "leñosa" o fibrosa. En particular, los carbohidratos que pueden ser hidrolizados y fermentados (en particular celulosa y, si está presente, hemicelulosa) se entrelazan con la lignina (por lo tanto, en adelante, tal biomasa se denomina como "biomasa lignocelulósica").

La lignina es un polímero heterogéneo complejo que no puede ser sometido al ciclo de hidrólisis / fermentación aplicado a la celulosa / hemicelulosa. La lignina como comúnmente se produce no es una sustancia particularmente útil y por lo general se desecha o se quema (generando algún beneficio en forma de calor del proceso) después de

la separación. En una biorrefinería eficiente en el futuro, todos los principales componentes de la lignocelulosa no sólo tienen que estar separados, sino que también todos tienen que ser utilizados. Los carbohidratos pueden utilizarse como una plataforma para los productos químicos a base de azúcar, por ejemplo, etanol.

El pretratamiento (antes de la hidrólisis) del material lignocelulósico se logra convencionalmente por medio de calentamiento con vapor, explosión de vapor o pretratamiento enzimático, entre otros.

En el documento WO 2006/128304 se presenta un proceso continuo para el tratamiento de una materia prima lignocelulósica. Este método comprende el pretratamiento de la materia prima lignocelulósica bajo presión en un reactor de tratamiento previo a un pH aproximadamente entre 0,4 y aproximadamente 2,0. Una parte menor de la lignina se disolverá en condiciones ácidas como estas, pero la mayor parte de la fracción de lignina de la biomasa de este proceso no será soluble en agua, y se separará junto con otros insolubles.

Otro método de conversión de material lignocelulósico se describe en la patente de los Estados Unidos No. 6.423.145. Un método modificado de ácido diluido de la hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa en material lignocelulósico bajo condiciones para obtener mayores rendimientos totales de azúcar fermentable, de lo que es posible obtener usando ácido diluido solo, que comprende: impregnar una materia prima lignocelulósica con una mezcla de una cantidad de solución acuosa de un catalizador ácido diluido y un catalizador de una sal metálica suficiente para proporcionar mayores rendimientos totales de azúcar fermentable, que lo que es posible obtener cuando se hidroliza con ácido diluido solo; la carga de la materia prima lignocelulósica impregnada en un reactor y calentada durante un período de tiempo suficiente para hidrolizar sustancialmente toda la hemicelulosa y más del 45% de la celulosa hasta azúcares solubles agua; y la recuperación de los azúcares solubles en agua. Este proceso produce ligninas insolubles que pueden ser separadas junto con la biomasa no hidrolizada y otros insolubles.

Un método más reciente de pretratamiento se describe en la solicitud de patente de los Estados Unidos No. 2008/0190013. Esta patente divulga un método para la conversión de material lignocelulósico en biocombustible. En formas de realización particulares, el método comprende el tratamiento previo del material lignocelulósico disolviendo el material en líquidos iónicos. El material lignocelulósico pretratado se puede aislar, por ejemplo por precipitación con un disolvente de regeneración (por ejemplo, agua), y se utiliza directamente en la formación de biocombustible, incluyendo someter a hidrólisis para formar el azúcar y su fermentación para formar el combustible, tal como el bioetanol. El líquido iónico puede ser reciclado para su uso posterior, tal como por evaporación del agua introducida durante la precipitación, y el reciclaje proporciona una ruta a una fracción rica en hemicelulosa y un líquido iónico de características consistentes de calidad y disolución de la madera. Las hemicelulosas recuperadas tienen un uso significativo potencial para productos y aplicaciones especiales. Este proceso también produce ligninas insolubles en agua.

La patente sueca No. 527.646 propone un proceso para la producción de combustibles para motores y celdas de combustible a partir de material lignocelulósico. La lignina se disuelve a partir del material lignocelulósico por medio de cocción, preferiblemente por medio de cocción con soda. El licor de la cocción se gasifica para producir gas de síntesis y posteriormente metanol, DME, etc., mientras que la celulosa y la hemicelulosa en la pulpa se hidrolizan por medio de ácido (fuerte o débil) o enzimas y luego se fermentan hasta etanol.

Un artículo de J. Y. Zhu et al. ("Sulfite Pretreatment (SPORL) for robust enzymatic saccharification of spruce and red pine"; Bioresource Tecnology 100 (2009) 2411 - 2418) publicado en línea el 31 de diciembre de 2008 reporta pretratamiento con sulfito para superar la resistencia de la lignocelulosa para la bioconversión eficiente de las maderas blandas.

Con el fin de llegar a un proceso en el que se lleva a cabo la conversión de la biomasa de segunda generación en biocombustibles en una forma económica y sostenible, se deben abordar una serie de desafíos.

El componente de lignina se suele quemar, sin embargo, es deseable poder convertir la lignina en productos químicos valiosos de interés comercial. Sin embargo, las ligninas de muchos de los procesos son impuras y son poco solubles en agua lo que las hace difíciles de procesar adicionalmente en productos químicos valiosos.

Se sabe que las ligninas en la biomasa absorben enzimas celulíticas y tienen por lo tanto un efecto inhibidor sobre las enzimas utilizadas para hidrolizar la celulosa hasta glucosa y celobiosa. Esto aumenta considerablemente las cantidades de enzimas requeridas. Además, la complejidad de la mezcla de enzima necesaria es considerable ya que las fibras de celulosa todavía están incrustadas tanto en la lignina como en la hemicelulosa. El costo de las enzimas, por lo tanto, es un reto importante en los procesos de conversión de la biomasa en biocombustible, además de bajo rendimiento total de los productos. Desafortunadamente, todos los procesos de pretratamiento conocidos dejan ligninas que inhiben estas enzimas, incluso cuando se reduce hasta niveles bajos (por debajo del 5%).

El reciclaje de enzimas es también difícil, ya que las enzimas se enlazan en forma inespecífica a la lignina en la etapa del proceso de hidrólisis.

Otro reto de la producción de bioetanol de segunda generación desde un punto de vista comercial es el bajo rendimiento total de productos químicos valiosos y, en particular, para proporcionar productos químicos más valiosos que el valor de la energía a partir de xilano y lignina.

A la luz de la técnica anterior, se busca un proceso para la conversión de biomasa lignocelulósica que prepare mejor la celulosa para la hidrólisis, así como que permita un uso más completo de la biomasa para obtener un mayor rendimiento en el desempeño de los productos químicos y / o el biocombustible.

Estos objetivos y otros se resuelven mediante un procedimiento para la producción de monosacáridos, productos químicos a base de azúcar o biocombustibles o materiales junto con la lignina sulfonada a partir de biomasa lignocelulósica que comprende al menos los siguientes pasos:

(i) el pretratamiento de una biomasa lignocelulósica en una etapa de cocción con sulfito,

(ii) la separación de la biomasa lignocelulósica pretratada a partir de la etapa (i) en

(a) una fase líquida de "licor gastado con sulfito" que comprende 60% o más de la lignina de la de biomasa lignocelulósica en forma de lignina sulfonada, y en

(b) una pulpa que comprende 70% o más de la celulosa de la biomasa lignocelulósica;

(iii) la hidrólisis de la pulpa (b) de la etapa (ii) en una plataforma química de azúcar que comprende monosacáridos;

(iv) opcionalmente el procesamiento adicional de los monosacáridos de la etapa (iii) que resulta en productos químicos útiles, biocombustibles y / o proteínas; y

(v) la conversión directa o procesamiento adicional de la lignina sulfonada de la fase líquida (a) de la etapa (ii) en productos químicos y / o materiales útiles.

en donde la etapa de hidrólisis (iii) es una etapa de hidrólisis enzimática.

En una forma de realización preferida y con base en el tipo de biomasa lignocelulósica en bruto, puede llevarse a cabo una etapa de tratamiento mecánico (0) antes de la etapa (i). En dicha etapa de tratamiento mecánico, la biomasa se divide en piezas más pequeñas o partículas por medio de tratamiento mecánico. Este paso es obsoleto, por ejemplo, en caso de utilizar el bagazo como materia prima.

En la etapa de pretratamiento (i), se somete a cocción la biomasa lignocelulósica con un sulfito, preferiblemente sulfito de sodio, calcio, amonio o magnesio en condiciones ácidas, neutras o básicas. Esta etapa de pretratamiento disuelve la mayor parte de la lignina como lignosulfonato junto con partes de la hemicelulosa. Esta fase líquida o disuelta (licor de despulpado, también conocido como "licor residual con sulfito", "SSL") es la fase líquida de SSL (a) de la etapa (ii). La celulosa se deja casi intacta en la pulpa (b) junto con partes de la hemicelulosa.

Por medio de tratamiento de la biomasa lignocelulósica de acuerdo con el proceso descrito anteriormente, se genera una plataforma de biorrefinería particularmente eficiente.

Empleando específicamente una cocción con sulfito como etapa de pretratamiento en el proceso general, se consigue una buena separación de los carbohidratos celulosa y hemicelulosa de la lignina. La pulpa resultante es particularmente fácil de hidrolizar debido a la modificación durante la cocción, lo que conduce a una reducción del coste de sacarificación.

El contenido de lignina no solubilizada residual en la pulpa que queda después del tratamiento de la invención se encuentra que no tiene importancia significativa de qué tan fácilmente puede ser hidrolizada la celulosa por las enzimas. Esto es muy sorprendente y diferente de lo que se ha reportado anteriormente, véase Mooney CA. et al., 1998, "The effect of the initial pore volumen and lignin content on the enzymatic hydrolysis of softwood", Biores. Technol. 64, 2, 113 - 119 y Lu Y. et al., 2002, "Cellulase adsorption and an evaluation of enzyme recycle during hydrolysis of steam-exploded softwood residues", Appl. Biochem. Biotechnol. 98 - 100, 641 - 654.

Sin desear estar limitado por la teoría, se puede suponer que el pretratamiento con sulfito altera la lignina en una manera que reduce o elimina su efecto inhibidor y de este modo aumenta el rendimiento de la hidrólisis con un posible bajo consumo de enzima.

Esta propiedad no inhibidora de la lignina residual también hace que sea más fácil recircular las enzimas por ejemplo, por adsorción del sustrato o filtración por membrana y hace más interesante el uso de enzimas de larga vida y más económico el proceso total.

Además, se alcanza un rendimiento mucho más alto de productos comercializables en comparación con otros procesos, principalmente debido al aislamiento y la utilización de un producto de lignina comercial, a saber, lignosulfonato.

Al practicar el proceso de acuerdo con la invención, más de 80% en peso de la materia prima de biomasa lignocelulósica puede ser transformada en productos comercializables y pueden obtenerse rendimientos de hasta el 90% de la cantidad teórica de azúcares fermentables. Una forma de realización del proceso total integrado se muestra a modo de ejemplo en la Figura 1 y se describe en más detalle a continuación.

Por lo tanto, los principales beneficios del presente proceso comprenden:

- Se convierte la lignina de una forma insoluble a una forma soluble en agua que facilita la fácil separación de las ligninas solubles en agua con propiedades sorprendentemente superiores como rendimiento de productos químicos y en la producción de productos químicos de lignina pura.

- Además, la celulosa en la pulpa es fácilmente degradada por enzimas como se explicó anteriormente y lleva el consumo de enzima y los costes hasta un nivel aceptable. Se cree que esto es debido al hecho de que durante la etapa de cocción con sulfito, se separan las fibras de celulosa y no permanecen incrustadas en la lignina y las hemicelulosas. También, la lignina que queda en la pulpa que contiene celulosa después del pretratamiento con sulfito es menos inhibidor para las enzimas que la lignina nativa en la etapa de procesamiento anterior de la hidrólisis enzimática. Este efecto fue completamente inesperado.

- Puesto que las enzimas aparentemente no se adsorben en forma irreversible a la lignina que queda en la pulpa de celulosa expuesta a la etapa de hidrólisis, también se puede reciclar las enzimas. Esto reduce adicionalmente el consumo de enzima y de este modo los costes del proceso.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 es un diagrama de flujo de un concepto de biorrefinería preferido de acuerdo con la presente invención.

La Figura 2 es un diagrama de flujo de una forma de realización preferida, usando adicionalmente oxígeno y / o deslignificación alcalina.

La Figura 3 muestra los resultados de la hidrólisis enzimática de las cocciones I y II con soda del Ejemplo comparativo I [correlación entre el número Kappa (lignina residual) y el rendimiento de glucosa (digestibilidad)].

La Figura 4 muestra la comparación de las pulpas sometidas a tratamiento con sulfito de sodio y cocción con soda durante la hidrólisis enzimática con Celluclast.

Descripción detallada de la presente invención

Las materias primas

En lo que respecta a la materia prima para la biomasa lignocelulósica, no existen limitaciones principales, excepto que la biomasa debe contener celulosa y lignina. Las materias primas preferidas que son apropiadas para el actual concepto de biorrefinería son los cultivos energéticos, plantas anuales, residuos agrícolas y madera.

Los cultivos energéticos comerciales son típicamente especies de cultivo de alto rendimiento plantadas en forma densa, que no tienen preferentemente o tienen escaso valor como alimentos. Por ejemplo, cultivos de madera tales como Salix, Miscanthus, sauce o álamo son preferiblemente cultivos energéticos.

Los ejemplos preferidos de plantas anuales son paja, caña de azúcar y mandioca. Todos ellos crecen rápidamente y generalmente tienen una cantidad relativamente baja de lignina (en comparación con la madera).

Los residuos agrícolas incluyen aquellas partes de cultivos herbáceos que no se utilizan para el propósito principal de la producción de alimentos, piensos o fibras, por ejemplo utilizados como lechos para los animales y plumas. Ejemplos de estos residuos son el bagazo de la caña de azúcar y la caña de maíz.

El material de partida particularmente preferido de la caña de azúcar se puede dividir en el bagazo, el azúcar y la paja. El bagazo es un material fibroso que consiste en celulosa, hemicelulosa, lignina, extractos, sales inorgánicas y otras sustancias orgánicas tales como proteínas y ácidos orgánicos.

El bagazo y la madera dura tienen muchas similitudes, es decir, alto contenido de xilano, menor longitud de la fibra y baja lignina y más bajo contenido de lignina y celulosa en comparación con la madera blanda. Sin embargo, el

bagazo tiene un contenido de cenizas ligeramente superior. El contenido de cenizas se puede explicar por las diferencias en la morfología de la planta y el método de cosecha. La menor longitud de fibra en el bagazo se debe principalmente a su alto contenido de médula (~ 30%).

En general, con base en el hecho de que puede no ser necesaria ninguna reducción mecánica de tamaño y que se obtienen rendimientos más altos de hidrólisis, se prefiere particularmente llevar a cabo el proceso de acuerdo con la presente invención con residuos agrícolas no leñosos, en particular bagazo, como materias primas.

La madera es también un material para el presente concepto de biorrefinería. En este sentido, todos los tipos de madera son adecuados.

La biomasa lignocelulósica es (pre)tratada antes de la hidrólisis y el posterior procesamiento de los monosacáridos y otros componentes. Un (pre)tratamiento puede ser mecánico o químico.

En un (pre)tratamiento mecánico, se transfiere momento o energía a la materia prima, por ejemplo mediante división o corte o golpeado de la biomasa en partículas más pequeñas. Aquí no se añaden reactivos químicos y la estructura química de los componentes de la materia prima permanece esencialmente sin afectar.

En el (pre)tratamiento químico, se añade al menos un reactivo químico y se altera la estructura química de al menos un componente de la materia prima. Como se discutirá en más detalle a continuación, "la fabricación de pulpa al sulfito" es un pretratamiento químico.

El tratamiento mecánico

Con base en el tipo de biomasa lignocelulósica en bruto, se puede llevar a cabo una etapa de tratamiento mecánico (0) antes de la etapa (i). En dicha etapa de tratamiento mecánico, se divide la biomasa en piezas más pequeñas o partículas por tratamiento mecánico. Este paso es obsoleto, por ejemplo, en el caso de utilizar bagazo o aserrín como materia prima.

Por lo tanto, en una forma de realización preferida, se utiliza una materia prima en la conversión de biomasa lignocelulósica que no requiera (pre)tratamiento mecánico y en donde la cocción con sulfito es el único (pre)tratamiento.

Pretratamiento: Fabricación de pulpa al sulfito

La fabricación de pulpa (o cocción) de madera con sulfito fue uno de los primeros métodos químicos utilizados en la fabricación de pulpa de madera ya en la década de 1860.

La primera fábrica de pulpa de papel que utilizó el proceso con sulfito se construyó en Suecia en 1874 y utilizó magnesio como contraión. El calcio se convirtió en el contraión estándar hasta la década de 1950. La fabricación de pulpa al sulfito fue el proceso dominante para la fabricación de pulpa de madera, hasta que fue superado por el llamado proceso "Kraft" en la década de 1940. El predominio de la fabricación de pulpa Kraft se basa en el hecho de que el proceso al sulfito se realiza típicamente bajo condiciones que hidrolizan parte de la celulosa, lo que significa que las fibras de pulpa al sulfito no son tan fuertes como las fibras de pulpa Kraft, que es una desventaja particular de fabricación de pulpa al sulfito para la aplicación predominante de la fabricación de pulpa de papel. Las pulpas al sulfito ahora representan menos del 10% de la producción total de pulpa química. Estas pulpas con sulfito restantes se utilizan para aplicaciones de papel especial y (por ejemplo en forma de la denominada "pulpa soluble") para la fabricación de derivados de la celulosa.

A diferencia del proceso Kraft con base en sodio que se realiza a un pH del licor de cocción fresco de aproximadamente 13, el proceso al sulfito se caracteriza porque cubre todo el rango de pH. El pH puede variar de <1 (usando soluciones de dióxido de azufre en agua) hasta > 13 (usando dióxido de azufre o sulfito de sodio o bisulfito de sodio junto con hidróxido de sodio). La cocción con sulfito se puede dividir en cuatro grupos principales: formación de la pulpa al sulfito ácido, bisulfito ácido, alcalino débil y alcalino.

Otra ventaja particular del pretratamiento al sulfito se refiere a la lignina que es de particular interés en el marco de la presente invención.

En su estado natural la lignina es insoluble en agua e hidrófoba. Cuando reacciona con sulfito, la lignina se convierte en lignina sulfonada (lignosulfonatos) que tiene propiedades drásticamente diferentes a los de la lignina. La introducción de grupos de ácido sulfónico en la lignina cambia el polímero desde un compuesto neutro hasta uno aniónicamente inactivo con uno de los ácidos orgánicos más fuertes conocidos, con una constante de disociación de 0,3. A diferencia de la lignina de origen natural, la lignina sulfonada como tal son productos químicos útiles de gran desempeño o se puede convertir en productos químicos / materiales comercialmente viables. La conversión de la lignina del presente proceso no se consigue en cualquier otro de los procesos de pretratamiento conocidos, en

particular no en los procesos de pretratamiento conocidos en el contexto de la conversión de la biomasa. Por tanto, el presente procedimiento permite la producción de productos químicos valiosos de alto rendimiento (lignina sulfonada) a partir de biomasa lignocelulósica y en particular a partir de biomasa no basada en la madera, por ejemplo, tallos, bagazo o plantas anuales.

En la etapa de pretratamiento (i) de la presente invención, se cocina la biomasa lignocelulósica con un sulfito, preferiblemente un sulfito de sodio, calcio, amonio o magnesio en condiciones ácidas, neutras o básicas. Esta etapa de pretratamiento disuelve la mayor parte de la lignina como lignina sulfonada (lignosulfonato) junto con partes de la hemicelulosa. Esta fase líquida o disuelta (licor de fabricación de pulpa) es la fase de líquida SSL (a) de la etapa (ii). La celulosa queda casi intacta en la pulpa (b) junto con partes de la hemicelulosa.

El uso de cocción con sulfito como una etapa de pretratamiento en la producción de combustibles o productos químicos a partir de azúcares fermentables es muy eficiente, ya que conduce a mayores rendimientos totales de productos químicos. En esencia, se consigue una producción más alta (> 80%) de productos químicos útiles que en cualquier otra tecnología conocida de biorrefinería con plataforma de azúcar.

En particular, se logran menores costos para la hidrólisis con base en un pretratamiento que separa la celulosa de manera eficiente de los otros constituyentes, en particular lignina, en un solo paso.

El hecho de que la pulpa de celulosa resultante del pretratamiento en un solo paso sea particularmente baja en impurezas, en particular lignina, hace que sea más fácil para desarrollar o adaptar enzimas para la hidrólisis.

Además, la etapa de pretratamiento con sulfito de la presente invención permite una mayor flexibilidad en el manejo del proceso (pH de 1 a 13) y en términos de la fase en la que la termina la hemicelulosa (es decir, si la hemicelulosa está predominantemente en la fase líquida SSL o predominantemente en la pulpa de celulosa). La etapa de pretratamiento con sulfito también se traduce en una mayor flexibilidad en términos de en qué forma (monomérica / polimérica) termina la hemicelulosa.

El pretratamiento al sulfito de acuerdo con la presente invención se puede realizar de acuerdo con una de las siguientes formas de realización preferidas. En las mismas y en toda la presente descripción, el "pretratamiento al sulfito" también se conoce como "cocción":

- cocción ácida (preferiblemente SO_2 con un hidróxido, preferiblemente además con $Ca(OH)_2$, NaOH, NH_4OH o $Mg(OH)_2$),

- cocción con bisulfito (preferiblemente SO_2 con un hidróxido, más preferiblemente con NaOH, NH_4OH o $Mg(OH)_2$),

- cocción alcalina débil (preferiblemente Na_2SO_3, preferiblemente además con Na_2CO_3) y

- cocción alcalina (preferiblemente Na_2SO_3 con un hidróxido, más preferiblemente con NaOH).

Existe una correlación entre el pH empleado durante la cocción y el número Kappa de la pulpa producida, en particular, los valores de pH altos conducen a bajos números Kappa. El número Kappa es una indicación del contenido de lignina o de blanqueo de la pulpa. El número Kappa se refiere al contenido de lignina de la pulpa y se puede utilizar para controlar la efectividad de la fase de extracción de lignina del proceso de fabricación de la pulpa. El número está típicamente en el intervalo de 1 a 100 para una pulpa y se establece mediante la medición de la cantidad de una solución de permanganato de potasio estándar que es consumida por la pulpa que se está considerando. Los detalles sobre cómo se determina el número Kappa se dan en la norma ISO 302:2004. Para cada tipo de cocción, el impacto de diferentes variables de cocción tales como temperatura, tiempo, relación líquido a sólido y la cantidad de productos químicos de cocción se pueden utilizar para afectar a la composición y las propiedades de la pulpa, en particular, el contenido de lignina y el contenido de hemicelulosa en la fase de pulpa y en la fase líquida de SSL, respectivamente (véase la Figura 1: fase de "Pulpa" y fase líquida de SSL "SSL").

Las cocciones ácidas dan como resultado pulpas con un contenido relativamente alto de lignina residual (15 - 40%) en la fase de pulpa (números Kappa 50 - 100). Cocciones con sulfito ácido resultan además en ligninas sulfonadas que tienen un alto grado de sulfonación. El peso molecular de la lignina sulfonada es también más alta en comparación con las cocciones alcalinas al sulfito. Durante la cocción con sulfito ácido, se degradan parcialmente los polisacáridos, principalmente por hidrólisis de los enlaces glicosídicos. La hemicelulosa es más sensible a la hidrólisis de la celulosa. Sin embargo, a diferencia de la fabricación de papel, esta hidrólisis parcial de (hemi)celulosa podría ser ventajosa en una biorrefinería donde potencialmente se necesita hidrolizar la (hemi)celulosa y romperla de cualquier forma.

Una gran parte (70% o más) de la hemicelulosa (principalmente presente como xilano) se hidroliza hasta monosacáridos, principalmente hasta xilosa, durante la cocción y se disuelve en el licor de la cocción, es decir, en la fase líquida de SSL.

Por lo tanto, de acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, se lleva a cabo una cocción ácida como la etapa de pretratamiento (i), en donde 70% o más de la hemicelulosa total de la biomasa lignocelulósica es hidrolizada hasta xilosa en la etapa (i) y está presente en la fase líquida de SSL (b) en la etapa (ii), es decir, el SSL que se separa de la pulpa de celulosa en la etapa (ii).

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción ácida, más preferiblemente una cocción ácida en el que la temperatura está en el intervalo de 125 ºC a 160 ºC. Las cocciones a temperaturas más altas resultan en rendimientos de pulpa más bajos y más extensa degradación de los monosacáridos en los SSL. Por lo tanto, se prefiere mantener la temperatura de la cocción ácida en o por debajo de 160 ºC.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción ácida y la cocción se realiza durante un intervalo de tiempo de 60 - 300 minutos.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción ácida y la relación de líquido a sólido es de 3:1 a 10:1.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción ácida y la cantidad de SO_2 es de 10 a 60% p / p, mientras que la cantidad de base (ion hidróxido) es de 1 a 10% p / p, preferentemente de 2% a 7%. A menos que se indique lo contrario, "p / p" se refiere a "% en peso" del componente en el licor de trabajo con respecto al peso de la materia prima seca.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción ácida y el hidróxido empleado se selecciona del grupo que consiste de NaOH, $Ca(OH)_2$, $Mg(OH)_2$, NH_4OH. Las cocciones con sodio generalmente producen números Kappa más bajos que las cocciones con calcio.

Las cocciones con bisulfito producen resultados similares a las cocciones ácidas pero generalmente conducen a una menor degradación de los carbohidratos, mayores rendimientos de SSL, a temperaturas superiores a 150 ºC, menores números Kappa.

En la cocción con bisulfito, el xilano disuelto en los SSL se hidroliza hasta xilosa sólo en una medida más pequeña (menos del 40%).

En lo que respecta a las cocciones con bisulfito, aplican los mismos intervalos preferidos para la temperatura, el intervalo de tiempo y la relación de líquido a sólido, como se describe más arriba para las cocciones ácidas.

Las pulpas alcalina y neutra como se discute más adelante, en general, son más brillantes y se deshidratan con más facilidad que las pulpas con ácido y bisulfito.

Las cocciones alcalinas resultan en pulpas con menores cantidades de lignina residual (> 80% de la lignina disuelta en la fase de SSL, Kappa ~ 10) y mayores contenidos de xilano (< 50% disuelto en el licor de la cocción). El xilano disuelto en las SSL esencialmente no se hidroliza hasta xilosa.

Por lo tanto, de acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, se lleva a cabo una cocción alcalina como etapa de pretratamiento (i), en donde 80% o más de la lignina total de la biomasa lignocelulósica está presente en la fase líquida de SSL (b), es decir la SSL que se separa de la pulpa de celulosa en la etapa (ii). El aumento de cargas alcalinas suelen dar lugar a pulpas con los números Kappa más bajos.

En la fabricación de pulpa alcalina con sulfito, se utilizan preferiblemente como reactivos hidróxido de sodio y sulfito de sodio. La fabricación de pulpa alcalina con sulfito combina dos reactivos de deslignificación fuertes, iones sulfito y iones hidróxido, lo que resulta en un proceso de deslignificación eficiente. La lignina sulfonada a partir de la fabricación de pulpa alcalina con sulfito tendrá un peso molecular más bajo y, posiblemente, será menos sulfonada, debido a la reducción de la eficiencia de los iones sulfito con el aumento del pH y aumento del efecto de los iones hidróxido. Las hemicelulosas se puede eliminar a través de disolución, es decir, se puede disolver hasta el 50% del xilano durante una cocción alcalina. Sin embargo, si la pulpa y el licor de la cocción se enfrían antes de la separación, la mayoría del xilano se vuelve a precipitar sobre la pulpa.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción alcalina, en la que, preferiblemente, la temperatura está en el intervalo de 130 ºC a 180 ºC, o preferiblemente de 140 ºC a 180 ºC.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción alcalina y la cocción se realiza durante un intervalo de tiempo de 45 a 300 minutos.
De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito

es una cocción alcalina, más preferiblemente una cocción alcalina en el que la relación de líquido a sólido es de 3:1 a 10:1.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción alcalina y la cantidad de Na_2SO_3 es de 5 a 60% p / p, mientras que la cantidad de base es de 5 a 25% p / p.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento al sulfito es una cocción alcalina y la base empleada se selecciona del grupo que consiste de NaOH o NH_4OH (NH_3).

La adición de antraquinona a cocciones alcalinas mejora la deslignificación y resulta en un grado más alto de carbohidratos en la pulpa. Por lo tanto, si se lleva a cabo una cocción alcalina como etapa de pretratamiento al sulfito, se prefiere la adición de antraquinona al licor de cocción.

Las cocciones alcalinas débiles producen pulpas similares a las de las cocciones alcalinas aunque con algo más de lignina y xilano residuales.

En el contexto de la presente solicitud, "cocción al sulfito alcalina débil" se define como una cocción con sulfito de sodio y carbonato de sodio. Las principales ventajas de estas cocciones son la prevalencia de las estructuras de carbohidratos, es decir, que permanecen esencialmente tanto la celulosa como la hemicelulosa en la pulpa.

La adición de antraquinona a cocciones alcalinas débiles mejora la deslignificación y resulta en un mayor grado de carbohidratos en la pulpa. Por lo tanto, si se lleva a cabo una cocción alcalina débil como la etapa de pretratamiento al sulfito, se prefiere la adición de antraquinona al licor de la cocción.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción alcalina débil y la temperatura está en el intervalo de 140 ºC a 180 ºC.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción alcalina débil y la cocción se realiza durante un intervalo de tiempo de 45 a 300 minutos.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción alcalina débil y la relación de líquido a sólido es de 3:1 a 10:1.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de pretratamiento con sulfito es una cocción alcalina débil y la cantidad de Na_2SO_3 es de 10 a 60% p / p, mientras que la cantidad de Na_2CO_3 es de 3 a 25% p / p y preferiblemente de 5 a 25% p / p.

El rendimiento de celulosa y hemicelulosa y el grado de deslignificación son considerablemente más altos para las cocciones a pH alto (alcalinas débiles y alcalinas) que para las cocciones a pH bajo (ácido y bisulfito). Las cocciones a pH alto producen pulpas de viscosidades considerablemente más altas que las cocciones a pH bajo.

Por lo tanto, de acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, el valor de pH en el que se realiza la cocción al sulfito de la etapa de pretratamiento (i), es mayor que 5, preferiblemente mayor que 7, aún más preferiblemente mayor que 9.

La separación de la pulpa y SSL

En la etapa (ii) del proceso de acuerdo con la presente invención, la pulpa (fase sólida; celulosa y hemicelulosa) se separa la pulpa del licor residual con sulfito (fase líquida de SSL; SSL, lignina sulfonada y hemicelulosa) por cualquier método conocido de separación por la persona experta en la técnica, en particular, prensado, filtración, sedimentación o centrifugación.

En la etapa (ii), la separación resulta en una fase líquida de SSL. La parte orgánica del SSL comprende predominantemente lignina (lignina sulfonada), es decir, comprende al menos 50% de la lignina presente inicialmente en la biomasa lignocelulósica, preferiblemente más del 60% o más del 70% o más del 80%. Además, preferiblemente, una cocción alcalina se lleva a cabo en la etapa (i) y 80% o más o 90% o más o 95% o más de la lignina inicialmente presente en la biomasa lignocelulósica está presente en la fase líquida de SSL después de la etapa (ii).

En una realización preferida, ya que se está llevando a cabo una etapa de pretratamiento con sulfito (alto rendimiento) en la etapa (i), la etapa de separación (ii) resulta en 60% o más, preferiblemente 75% o más, más preferiblemente 90% o 95% o más de la celulosa que estaba inicialmente presente en la biomasa lignocelulósica, presente en la fase de la pulpa.

Hidrólisis

De acuerdo con la etapa (iii) del presente proceso, se hidroliza una pulpa como la separada en la etapa (ii). La pulpa es hidrolizada preferentemente por enzimas o por degradación microbiana.

La celulosa es un polímero lineal insoluble de repeticiones de unidades de glucosa (o más correctamente celobiosa) enlazadas por medio de enlaces β-1-4-glucosídicos. En agua, la celulosa se hidroliza por el ataque del hidrógeno electrofílico de la molécula de agua cobre el enlace glicosídico.

La velocidad de la reacción se puede aumentar mediante el uso de temperaturas y presiones elevadas o puede ser catalizada por ácido diluido o concentrado o por enzimas.

- Hidrólisis enzimática

En las cadenas de celulosa cada unidad de glucosa tiene el potencial de formar tres enlaces de hidrógeno con monómeros en las cadenas adyacentes, lo que resulta en una estructura cristalina estable resistente a la hidrólisis.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, los complejos enzimáticos extracelulares o asociados con la membrana celular (celulasas) que puede hidrolizar específicamente el polímero de celulosa en monómeros solubles de glucosa se utilizan en la etapa de hidrólisis (III). Las celulasas son complejos de múltiples proteínas que consisten en enzimas sinérgicas con diferentes actividades específicas que se pueden dividir en exo y endo-celulasas (glucanasa) y β-glucosidasa (celobiasa). Además, existen enzimas (hemicelulasas, lacasas, peroxidasas lignolíticas etc.) que pueden descomponer los otros componentes principales de la biomasa lignocelulósica. Todas estas enzimas y cualquier combinación de las mismas, son enzimas preferidas que pueden utilizarse en la hidrólisis enzimática de la etapa (iii).

La celobiosa es un inhibidor conocido del producto final de las glucanasas y se sabe que la β-glucosidasa alivia esta inhibición mediante la conversión de celobiosa en glucosa (etapa limitante de la velocidad). En los procesos industriales, por ejemplo, la fermentación del etanol por la levadura, la eficiencia de la sacarificación por la celulasa se puede mejorar por medio de sacarificación y fermentación simultáneas (SSF). El mayor desafío con la SSF es la diferente temperatura óptima para las enzimas hidrolíticas comunes y los organismos de fermentación. Además de la inhibición del producto final, se sabe que la lignina reduce el rendimiento de la enzima mediante el enlazamiento no específico con celulasas.

Tanto la hidrólisis enzimática como por ácido de la celulosa está limitada por la fuerte naturaleza cristalina de la celulosa. Las ventajas de la hidrólisis enzimática sobre la hidrólisis ácida son el uso de condiciones suaves y la formación mínima de productos de degradación, mientras que las desventajas pueden ser un procesamiento lento y costoso. El tratamiento previo de la celulosa es de vital importancia para aumentar el área de superficie específica de la celulosa y para reducir la cristalinidad. El pretratamiento correcto tiene la ventaja de aumentar la velocidad de hidrólisis de la enzima debido a un sustrato más accesible y también por la eliminación de posibles sustancias inhibidoras como se señaló anteriormente.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, la etapa de hidrólisis (iii) es una etapa de hidrólisis enzimática.

De acuerdo con una forma de realización preferida de la presente invención, las enzimas se reciclan, preferentemente por adsorción del sustrato y / o separación por membrana.

- Hidrólisis ácida débil

La hidrólisis ácida es un método económico y rápido para la obtención de monosacáridos a partir de celulosa y hemicelulosa, pero genera algunos productos de degradación. Condiciones de hidrólisis ácida severa (alta temperatura o alta concentración de ácido) degradan los monosacáridos hasta furfural y 5-hidroximetilfurfural (HMF) y hasta ácidos alifáticos (tales como AcOH, HCOOH y ácido levulínico). Sin embargo, la hidrólisis con ácido débil puede, bajo ciertas circunstancias, ser útil como una etapa adicional de hidrólisis.

Una hidrólisis ácida concentrada se opera preferiblemente a temperaturas de 20 ºC a 100 ºC, y una fuerza ácida en el intervalo de 10% al 30%. Preferentemente se utiliza ácido sulfúrico. El proceso requiere un equipo resistente a la corrosión y para la recuperación del ácido.

La hidrólisis ácida diluida es un proceso más simple, pero necesita temperaturas más altas (100 ºC a 230 ºC) y presión. Se utilizan preferiblemente diferentes tipos de ácidos, con concentraciones en el intervalo de 0% a 5% (por ejemplo, ácido acético, HCl o ácido sulfúrico). Un proceso ácido diluido necesitará equipos que toleren la presión.

Fermentación

La etapa (iv) del presente proceso se refiere a la fermentación de monosacáridos, en particular de las hexosas y pentosas a etanol u otros productos químicos a base de azúcar o para producir proteínas de biomasa.

La fermentación implica microorganismos que descomponen los azúcares con la liberación de energía, mientras que el proceso da lugar a productos como un alcohol o un ácido. Se utiliza más frecuentemente *Saccharomyces cerevisiae* (levadura de panadería) para fermentar hexosas hasta etanol. Un mol de glucosa producirá estequiométricamente 2 moles de etanol y 2 moles de dióxido de carbono. La pulpa de bagazo contiene cantidades relativamente grandes de pentosas. Estos azúcares también pueden ser ya sea fermentados o metabolizados para producir proteínas de biomasa.

De acuerdo con una forma de realización de la presente invención, se utiliza bagazo como materia prima y la etapa de fermentación (iv) comprende la metabolización del hidrolizado de la etapa (iii) en proteínas de biomasa.

Procesamiento de lignosulfonato

De acuerdo con la etapa (v) del proceso integrado de acuerdo con la presente invención, la fase líquida de SSL (a) de la etapa (ii), es decir, el SSL que comprende 50% o más o 60% o más o 70% o más o 80% o más de lignina en la materia prima, se procesa hasta lignina purificada sulfonada (lignosulfonatos) y otros productos. El paso principal en el procesamiento puede ser, por ejemplo, la fermentación, ultrafiltración, destrucción de azúcar, precipitación etc. Otras medidas pueden incluir el secado, evaporación, extracción y neutralización, etc.

La lignina sulfonada (lignosulfonatos) se puede utilizar para una amplia gama de aplicaciones, incluyendo pero sin limitarse a productos químicos, expansores de baterías, proteína de derivación, dispersiones de negro de carbono, cemento, cerámica, aditivos para hormigón, emulsiones, fertilizantes, placas de yeso, ácido húmico, aglomerantes industriales, aditivos para tratamiento de agua y limpiadores industriales, acondicionadores del suelo, micronutrientes, minería y procesamiento de minerales, productos químicos para campos petroleros, mejoradores del rendimiento de granulación y control de polvo del suelos y caminos, entre otros.

Deslignificación opcional adicional

En una forma de realización preferida y con el objeto de reducir aún más la cantidad de lignina en la fase sólida (pulpa), una etapa de deslignificación con oxígeno / alcalina (etapa de extracción) (i') puede ser parte del proceso total integrado. Esta etapa de extracción opcional (i') se lleva a cabo preferiblemente después de la etapa de pretratamiento (i) y antes de la etapa de separación (ii).

La extracción de más lignina tiene la ventaja de una mayor producción de lignosulfonato.

Dicha deslignificación adicional se considera preferiblemente para pulpas derivadas del proceso con sulfito ácido, ya que estas pulpas tienen contenidos comparativamente altos de lignina. La deslignificación con oxígeno (carga de NaOH al 10%, 6 bares de oxígeno) puede producir una reducción del número Kappa de 58 unidades (70 a 12) para una pulpa cocinada con sulfito ácido. La lignina sulfonada extraída durante la deslignificación (aproximadamente el 25% de las ligninas sulfonadas extraídas durante la cocción) tiene poderes dispersantes.

La deslignificación alcalina / por oxígeno para la remoción de lignina es la etapa de deslignificación adicional preferida. Durante la deslignificación con oxígeno, se somete la pulpa a presión de oxígeno a pH alto y temperatura elevada.

Ejemplos

Lo siguiente se aplica en general a lo largo de toda la memoria descriptiva y también para las reivindicaciones:

"ST" significa "sólidos totales" y es la relación entre el peso de una muestra después de que ha sido secada a 105 ºC durante 16 h, y su peso original;

La temperatura se da en ºC

"p" indica peso;

"%" significa "% en peso" si no se especifica lo contrario,

"v / p" significa "volumen en mL" sobre el peso en g si no se especifica lo contrario.

Ejemplo 1 - cocción alcalina con sulfito, hidrólisis enzimática

Se usó bagazo [82% de ST (sólidos totales)] como materia prima. Se mezcló la materia prima con un licor de cocción que consistía de 6% de NaOH (p / p de alimentación) y 24% de Na_2SO_3 (p / p de alimentación) con una relación líquido a sólido de 6 a 1.

Se calentó la mezcla a 170 ºC con un aumento de temperatura de 1,6 ºC / min. Se mantuvo la cocción a 170 ºC durante 60 min.

Después de la cocción, es decir, después de la etapa de pretratamiento de acuerdo con la presente invención, se separaron el sólido (pulpa, 51% de ST) y el líquido (SSL, 49% de ST) por filtración. La pulpa consistía de celulosa correspondiente al 57% de glucosa, xilano correspondiente a 24% de xilosa, 2% de otros carbohidratos, 5% de lignina, 4% de ceniza y 8% de componentes no definidos.

El SSL tenía un contenido de carbohidratos del 11% (xilano correspondiente al 6,4% de xilosa) en ST. El contenido de azufre orgánico en el SSL era del 5,7% en ST. El resto del SSL era lignina sulfonada (lignosulfonato) y material inorgánico. Después de la evaporación, se probó el SSL para diferentes aplicaciones y resultó ser comparable a los productos comerciales existentes.

En las etapas posteriores del proceso con respecto a la pulpa de celulosa, se hidrolizó enzimáticamente dicha pulpa con 0,7% de enzimas (peso de proteína / peso de alimentación) (0,5% de celulasa, 0,05% de β-glucosidasa y 0,15% de xilanasa) a 50 ºC durante 48 horas. Esto resultó en un rendimiento del 92% con respecto a la glucosa y 90% con respecto a la xilosa. Se separó el líquido (hidrolizado) de la fase sólida por centrifugación.

Ejemplo 2 - cocción con sulfito ácido, hidrólisis enzimática

Se utilizó bagazo (82% de ST) como materia prima. Se mezcló la materia prima con un licor de cocción con 35% de SO_2 (p / p de alimentación) y 3,1% de iones hidróxido (p / p de alimentación), se usó NaOH como base. La relación líquido a sólido fue de 6 a 1. En dicha etapa de pretratamiento, se calentó la mezcla a 140 ºC con un aumento de temperatura de 1,9 ºC / min y una detención en 105 ºC durante 30 min. Se mantuvo la cocción a 140 ºC durante 180 minutos.

Después de la cocción, se separaron las fases líquida (SSL, 55% de ST) y sólida (pulpa, 45% de ST) por filtración. La pulpa consistía de celulosa, correspondiente a 79% de glucosa, xilano, correspondiente a 6% de xilosa, 1% de otros carbohidratos, 11% de lignina, 3% de cenizas.

El SSL tenía un contenido de carbohidratos del 25% (19% de xilosa) del ST. El contenido de azufre orgánico en el SSL era del 4,6% en ST. Después de la evaporación, el SSL se probó para diferentes aplicaciones y resultó ser comparable a los productos comerciales existentes.

En la etapa de hidrólisis después del tratamiento previo, se hidrolizó la pulpa enzimáticamente con 0,55% (p de proteína / p de alimentación) de enzimas (0,5% de celulasa, 0,05% β-glucosidasa) a 50 ºC durante 48 horas. Esto resultó en un rendimiento del 96% con respecto a la glucosa y 75% con respecto a la xilosa. El líquido (hidrolizado) se separó de la fase sólida por centrifugación.

Ejemplo 3 - cocción con sulfito alcalino débil, hidrólisis enzimática

Se usó bagazo (91,4% de ST) como materia prima. Se mezcló la materia prima con un licor de cocción que consta de 6% de Na_2CO_3 (p / p de alimentación) y 16% de Na_2SO_3 (p / p de alimentación) con una relación líquido a sólido de 6 a 1.

Se calentó la mezcla a 160 ºC con un aumento de temperatura de 1,3 ºC / min. La cocción se mantuvo a 160 ºC durante 180 minutos.

Después de la cocción se separaron el sólido (pulpa, el 53% de ST) y el líquido (SSL, el 47% de ST) por filtración. La pulpa consistía de celulosa correspondiente al 63% de glucosa, xilano correspondiente al 27% de xilosa, 2% de otros hidratos de carbono, 5% de lignina y 3% de ceniza.

El SSL tenía un contenido de hidratos de carbono de 7,5% (xilano correspondiente al 4,7% de xilosa) en ST. El resto del SSL se sulfonó con lignina (lignosulfonato) y material inorgánico.

En las etapas adicionales de procesamiento de la pulpa de celulosa, dicha pulpa se hidroliza enzimáticamente con dos concentraciones de sustrato diferentes 5 y 10% p / p. Se utilizaron dos formulaciones diferentes de enzimas para la sacarificación, el sistema Celluclast de Novozymes, (5% de "Celluclast 1,5 L", 0,5% de β-glucosidasa "Novozym 188" y 1% de xilanasa "Shearzyme" todo en v / p de pulpa) y el sistema Accellerase 1500 de Genencors (24% v / p de pulpa), ambas formulaciones se ensayaron a pH 5 (amortiguador de citrato 5 mM), se incubaron a 50 ºC durante 72 horas. Se tomaron muestras a 6, 24, 48 y 72 horas. Los resultados se suministran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la hidrólisis enzimática con cocción alcalina débil, ejemplo 3.

Rendimiento %	6h		24 h		48 h		72 h	
	Glucosa	Xilosa	Glucosa	Xilosa	Glucosa	Xilosa	Glucosa	Xilosa
Concentración de pulpa 5% alcalina débil *(Celluclast)*	22,1	31,0	50,3	63,3	71,4	90,0	81,0	90,0
Concentración de pulpa 5% alcalina débil *(Accellerase)*	35,3	52,2	56,8	53,8	61,5	58,7	69,5	65,2
Concentración de pulpa 10% alcalina débil *(Celluclast)*	13,9	24,6	38,4	57,1	61,0	76,3	67,0	76,3
Concentración de pulpa 10% alcalina débil *(Accellerase)*	22,1	22,8	44,8	49,9	49,4	48,9	54,7	57,9

Ejemplo 4 - Cocción II con sulfito ácido, hidrólisis enzimática

Se utilizó bagazo (91,4% de ST) como materia prima. Se mezcló el material de alimentación con un licor de cocción con 47% de SO_2 (p / p de alimentación) y 3,8% de iones hidróxido (p / p de alimentación). Se usó NaOH como base. La relación líquido a sólido era de 6 a 1. En dicha etapa de pretratamiento, se calentó la mezcla a 140 ºC con un aumento de temperatura de 1,5 grados ºC / min. La cocción se mantuvo a 140 ºC durante 120 minutos.

Después de la cocción, se separaron las fases sólida (pulpa, el 47% de los ST) y líquida (SSL, 53% de los ST) por filtración. La pulpa consistía de celulosa correspondiente al 79% de glucosa, xilano correspondiente al 8% de xilosa, menos de 1% de otros carbohidratos, 11% de lignina y 2% de ceniza.

El SSL tenía un contenido de carbohidratos del 22,8% (20,2% de xilosa) con base en el ST. El contenido de azufre orgánico en el SSL era del 4,6% con base en los ST.

En las etapas adicionales del proceso con respecto a la pulpa de celulosa, se hidrolizó dicha pulpa enzimáticamente con dos concentraciones diferentes de sustrato 5 y 10% p / p. Se utilizaron dos formulaciones diferentes de enzimas para la sacarificación, el sistema Celluclast de Novozymes, (5% de "Celluclast 1,5 L", 0,5% de β-glucosidasa "Novozym 188" y 1% de xilanasa "Shearzyme" todo en v / p de pulpa) y el sistema Accellerase 1500 de Genencors (24% v / p de pulpa), ambas formulaciones se ensayaron a pH 5 (amortiguador de citrato 5 mM), se incubaron a 50 ºC durante 72 horas. Se tomaron muestras a 6, 24, 48 y 72 horas. Los resultados se suministran en la Tabla 2 y muestran que el proceso de la invención funciona bien con diferentes tipos de enzimas.

Tabla 2. Resultados de la hidrólisis enzimática con cocción ácida, ejemplo 4.

Rendimiento %	6h		24 h		48 h		72 h	
	Glucosa	Xilosa	Glucosa	Xilosa		Glucosa	Xilosa	Glucosa
Concentración de pulpa 5% ácida *(Celluclast)*	21,9	33,3	46,0	52,6	61,7	66,3	61,7	66,3
Concentración de pulpa 5% ácida *(Accellerase)*	33,3	34,6	48,7	52,4	50,5	57,2	57,8	66,3
Concentración de pulpa 10% ácida *(Celluclast)*	17,0	26,8	40,0	50,8	49,8	54,2	49,7	56,5
Concentración de pulpa 10% ácida *(Accellerase)*	23,5	24,8	48,2	48,5	51,3	54,2	54,7	58,8

Ejemplo 5 - Cocción de paja con sulfito ácido y alcalino débil, hidrólisis enzimática

Se utilizó paja de Noruega (92,5% de ST) como materia prima. Se dividió la materia prima en dos partes. La primera parte se mezcló con un licor de cocción que consistía de 16% de Na_2SO_3 (p / p de alimentación) y 6% de Na_2CO_3 (p / p de alimentación). En dicha etapa de pretratamiento, se calentó la mezcla a 160 ºC con un aumento de temperatura de 2 ºC / min. La cocción se mantuvo a 160 ºC durante 120 min.

La segunda parte se mezcló con un licor de cocción con 36,1% de SO_2 (p / p de alimentación) y 3,8% de iones hidróxido (p / p de alimentación), se utilizó NaOH como base. En dicha etapa de pretratamiento, se calentó la mezcla a 132 ºC con un aumento de temperatura de 1,8 ºC / min. La cocción se mantuvo a 132 ºC durante 180 min.

La relación de líquido a sólido fue de 6:1 para ambas cocciones.

Después de que la cocción (alcalina débil / ácida), se separaron las fases sólida (pulpa, 49/45% de los ST) y líquida (SSL, 51/55% de los ST) por filtración (sólo los sólidos secos se tuvieron en cuenta para la determinación de los porcentajes). La pulpa consistió de celulosa correspondiente al 63/81% de glucosa, xilano correspondiente al 25 / 10% de xilosa, 2 / menos del 1% de otros carbohidratos, 7 / 15% de lignina y 2 / 0% de componentes no definidos.

El SSL tenía un contenido de carbohidratos de 14,3 / 21,1% (xilano correspondiente al 8,5% de xilosa / 16,7% de xilosa) en ST.

En las etapas adicionales del proceso con respecto a la pulpa de celulosa, dicha pulpa se hidrolizó enzimáticamente con una concentración de sustrato del 8% p / p. Se puso a prueba una formulación enzimática, el sistema Celluclast de Novozymes, (10% de "Celluclast 1,5 L", el 15% de β-glucosidasa "Novozym 188" y el 2% de xilanasa "Shearzyme" todo en v / p de pulpa) a pH 5 (amortiguador de citrato 5 mM), se incubó a 50 ºC durante 24 horas. Se tomaron muestras después de 24 horas. El uso de la muestra cocida alcalina débil resultó en un rendimiento del 62% de glucosa y 68% de xilosa. El uso de la muestra cocida ácida resultó en un rendimiento del 60% de glucosa y 78% de xilosa.

Ejemplo 6 - Cocción de bagazo con sulfito alcalino, alcalino débil y ácido, hidrólisis enzimática

Se realizaron una serie de 25 cocciones alcalinas, alcalinas débiles y ácidas, usando bagazo (65% de ST) como materia prima. Se probaron condiciones que cubren un amplio rango. Cocciones ácidas: 20 - 50% de SO_2 (p / p de alimentación) y 2 - 8% de ion hidróxido (p / p de alimentación), se utilizó NaOH como base. La temperatura de cocción varió de 125 a 160 ºC y el tiempo de 60 a 180 min. Cocciones alcalinas débiles: 10 - 40% de Na_2SO_3 (p / p de alimentación) y 5 - 25% de Na_2CO_3 (p / p de alimentación). La temperatura de cocción varió de 140 a 180 ºC y el tiempo de cocción de 60 a 180 min. Cocciones alcalinas: 10 - 40% de Na_2SO_3 (p / p de alimentación) y 5 - 30% de NaOH (p / p de alimentación). La temperatura de cocción varió de 140 a 180 ºC y el tiempo de 60 a 180 min.

Los cocciones resultaron en 25 pulpas diferentes con una cantidad variable de lignina residual de 1,6 a 51% (número Kappa 8 - 102).

En los pasos adicionales del proceso con respecto a la pulpa, dicha pulpa se hidrolizó enzimáticamente con una concentración de sustrato de 2% p / p. Se puso a prueba una formulación enzimática, el sistema Celluclast de Novozymes, (5% de "Celluclast 1,5 L", 0,5% de β-glucosidasa "Novozym 188" y 1% de xilanasa "Shearzyme" todo en v / p de pulpa) a pH 5 (amortiguador de citrato 5 mM), se incubó a 50 ºC durante 48 horas. El rendimiento de glucosa como un gráfico del número Kappa (lignina residual) se presenta en la Figura 3. Los resultados de la Figura 3 muestran que no existe una clara correlación entre los digestibilidades de las pulpas y su contenido de lignina (números Kappa). En otras palabras, a pesar del hecho de que el contenido residual varía significativamente de menor a mayor, esto no tiene ningún efecto notable en el rendimiento, que varía entre 60% y 100% (valores > 100% se deben a la barra de error) sin ninguna correlación con Kappa. Esto se cree que es debido a la "desactivación" de la lignina por el proceso con sulfito como se describió anteriormente.

Ejemplo 7 - Fermentación etanólica

La fermentación se realizó usando levadura de panadería (*Saccharomyces cerevisiae*) en fermentadores Biostat B plus de 2 L (Sartorius Stedium) como cultivos por lotes bajo condiciones controladas.

Se utilizaron placas de agar con YPD [extracto de levadura (10 g / L), peptona (20 g / L), dextrosa (20 g / L), agar (20 g / l)] para mantener la cepa. Se recolectó una sola individual y se inoculó inicialmente en 100 mL de medio YPD ml y se incubó durante la noche a 34 ºC y 200 rpm. Se criopreservó el cultivo en glicerol al 30% a -80 ºC en alícuotas de 10 ml. Se usó una alícuota descongelada como inóculo para un cultivo iniciador que se cultivó en 600 ml de medio YPD durante la noche. Se recolectaron las células por centrifugación, se lavaron con solución de cloruro de sodio (9 g / L) y se centrifugaron.

Se mejoraron los hidrolizados preparados de acuerdo con los procedimientos de los Ejemplos 3 y 4 anteriores con solución nutriente [$(NH_4)_2SO_4$ (0,44 g / L), KH_2PO_4 (2,0 g / L) y $MgSO_4$ (0,50 mg / L)] y 1,0 g / l de extracto de levadura y se ajustó el pH a 4,6. Se suspendió allí un inóculo de pellas (ajustado para producir una concentración de biomasa inicial de ~ 2 g l^{-1} de peso seco). Se controló el nivel de glucosa durante la fermentación mediante el uso de un glucómetro (Glucometer Elite, Bayer AG, Alemania). Se centrifugaron las muestras tomadas de los fermentadores a 13.000 g durante 1 min. Se filtró el sobrenadante a través de un filtro de HPLC (filtro de jeringa de 13 mm Acrodisc GHP de 0,45 µm) y se analizó el contenido de glucosa (cromatografía iónica) y la concentración de etanol (cromatografía de gases).

Los hidrolizados obtenidos mediante el uso de los procedimientos de los Ejemplos 3 y 4 ambos dieron un coeficiente de rendimiento de 0,50 (g de etanol / g de glucosa).

Ejemplos Comparativos

Ejemplo comparativo I - Cocciones con soda, hidrólisis enzimática

Se utilizó bagazo (91,4% de ST) como materia prima. Se mezcló la materia prima con licor de cocción que consistía de NaOH al 16% (p / p de alimentación) con una relación de líquido a sólido de 6 a 1.

Cocción I con soda:

Se calentó la mezcla a 160 ºC con un aumento de temperatura de 1,3 grados ºC / min. Se mantuvo la cocción a 160 ºC durante 180 minutos.

Cocción II con soda:

Se calentó la mezcla a 140 ºC con un aumento de temperatura de 1,5 grados ºC / min. Se mantuvo la cocción a 140 ºC durante 120 minutos.

Después de la cocción, se separaron el sólido (pulpa, 48 / 52% de los ST) y el líquido (licor negro, de 52 / 48% de los ST) por filtración (sólo se tomaron en cuenta los sólidos secos determinando los porcentajes). La pulpa consistía de celulosa correspondiente al 68 / 65% de glucosa, xilano correspondiente al 26 / 26% de xilosa, 2 / 2% de otros hidratos de carbono, 4 / 5% de lignina, 2 / 2% de ceniza.

El SSL tenía un contenido de carbohidratos de 9,6 / 9,2% (5,7 / 5,9% de xilosa) en la sustancia seca. El resto del licor negro era lignina degradada, ácidos alifáticos y sustancias inorgánicas.

En las etapas adicionales del proceso con respecto a la pulpa de celulosa, se hidrolizó enzimáticamente dicha pulpa con dos concentraciones de sustrato diferentes 5 y 10% p / p. Se probó el sistema Celluclast de Novozymes, (5% de "Celluclast 1,5 L", 0,5% de β-glucosidasa "Novozym 188" y 1% de xilanasa "Shearzyme" todo en v / p de pulpa) a pH 5 (amortiguador de citrato 5 mM), se incubó a 50 ºC durante 72 horas. Se tomaron muestras a 6, 24, 48 y 72 horas, los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la hidrólisis enzimática de la cocción I y II con soda, Ejemplo Comparativo I.

Rendimiento %	6h		24 h		48 h		72 h	
	Glucosa	Xilosa	Glucosa	Xilosa	Glucosa	Xilosa	Glucosa	Xilosa
Soda I concentración de pulpa *5%*	12.8	19.8	29.4	43.0	48.0	61.8	48.3	62,4
Soda I concentración de pulpa *10%*	4.3	11.3	12.7	34.4	26.4	60.1	47.1	61,6
Soda II concentración de pulpa *5%*	12.9	19.7	28.9	43.2	46.9	60.9	54.8	63.9
Soda II concentración de pulpa *10%*	6.5	12.2	10.7	33.6	21.5	57.4	30.1	54.2

Interpretación del Ejemplo Comparativo I y los Ejemplos 3 y 4

Cuando se compara el método de pretratamiento de la presente invención con una cocción con soda, se pueden observar varias diferencias. El procedimiento reivindicado genera una fracción líquida (SSL) que se puede transformar fácilmente en productos con extensas propiedades dispersantes. Cuando se examina la segunda etapa (hidrólisis / sacarificación) del proceso, existe una clara diferencia en la digestibilidad entre las muestras cocidas con soda y sulfito, ver la Figura 4.

Puede observarse claramente que el bagazo pretratado con sulfito es mucho más fácil de hidrolizar que el bagazo cocinado con soda. Antes de la presente invención, el perjuicio en la técnica era que existía una correlación directa entre la digestibilidad enzimática y la cantidad de lignina para los materiales pretratados (véase, por ejemplo: Mooney C.A. et al., 1998, "The effect of the initial pore volumen and lignin contento n the enzymatic hydrolysis of

softwood", Biores. Technol. 64, 2, 113 - 119, y Lu Y. et al., 2002. "Cellulase adsorption and an evaluation of enzyme recycle during hydrolysis of steam-exploded softwood residues", Appl. Biochem. Biotechnol. 98 - 100, 641 - 654). El pretratamiento con sulfito da como resultado pulpas más fácilmente hidrolizadas que las cocciones con soda, a pesar del hecho de que el contenido de lignina es menor en las cocciones con soda. Este hallazgo indica fuertemente que el contenido de lignina no es un factor determinante de la velocidad para la hidrólisis de material pretratado con sulfito. Esto no ha sido previamente observado para pretratamientos de deslignificación y no fue anticipado.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la producción de monosacáridos, productos químicos a base de azúcar, biocombustibles o materiales junto con lignina sulfonada a partir de biomasa lignocelulósica que comprende al menos las siguientes etapas:

(i) el pretratamiento de una biomasa lignocelulósica en una etapa de cocción con sulfito;
(ii) la separación de la biomasa lignocelulósica pretratada de la etapa (i) en

(a) una fase líquida de "licor residual con sulfito" que comprende 60% o más de la lignina de la biomasa lignocelulósica en forma de lignina sulfonada, y en
(b) una pulpa que comprende 70% o más de la celulosa de la biomasa lignocelulósica;

(iii) la hidrólisis de la pulpa (b) de la etapa (ii) en una plataforma química de los azúcares que comprende monosacáridos;
(iv) opcionalmente el procesamiento adicional de los monosacáridos de la etapa (iii) que resulta en productos químicos útiles, biocombustibles y / o proteínas; y
(v) la conversión directa o procesamiento adicional de la lignina sulfonada de la fase líquida (a) de la etapa (ii) en productos químicos y / o materiales útiles,

caracterizado porque la etapa de hidrólisis (iii) es una etapa de hidrólisis enzimática.

2. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los monosacáridos comprenden hexosas y pentosas.

3. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la biomasa lignocelulósica comprende madera, plantas anuales, residuos agrícolas o residuos, bagazo o cultivos energéticos, y / o en donde la biomasa lignocelulósica utilizada en el proceso no requiere (pre)tratamiento mecánico y / o en donde la etapa de cocción al sulfito (i) es el único (pre) tratamiento químico antes de la hidrólisis.

4. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la parte orgánica de la fase líquida "de licor residual con sulfito" comprende predominantemente lignina en forma de lignina sulfonada, es decir, comprende al menos 70 % de la lignina presente inicialmente en la biomasa lignocelulósica.

5. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el valor del pH en el que se realiza la cocción al sulfito de la etapa de pretratamiento (I) es mayor que 5.

6. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde se lleva a cabo una cocción ácida como el único pretratamiento químico.

7. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la etapa de pretratamiento al sulfito es una cocción ácida y la cantidad de SO_2 es de 10 a 60 % p / p y la cantidad de base (ion hidróxido) es de 1 a 10 % p / p.

8. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la etapa de pretratamiento al sulfito es una cocción alcalina.

9. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la cantidad de Na_2SO_3 es de 5 a 60 % p / p, mientras que la cantidad de base es de 5 a 25 % p / p.

10. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la etapa de pretratamiento al sulfito es una cocción alcalina débil.

11. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la etapa de hidrólisis (III) es una etapa de hidrólisis enzimática que emplea complejos de enzimas extracelulares o asociados con la membrana celular.

12. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 11 en donde la etapa de hidrólisis (iii) es una etapa de hidrólisis enzimática y se reciclan las enzimas.

13. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde se usa bagazo como la materia prima y la etapa de fermentación (iv) comprende la metabolización del hidrolizado de la etapa (iii) en biocombustibles tales como etanol y butanol, o en done se utiliza bagazo como la materia prima y la etapa de fermentación (iv) comprende la metabolización del hidrolizado de la etapa (iii) en proteínas de biomasa.

14. Un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde una etapa de deslignificación alcalina / con oxígeno (i') es parte del proceso total integrado.

Figura 1:

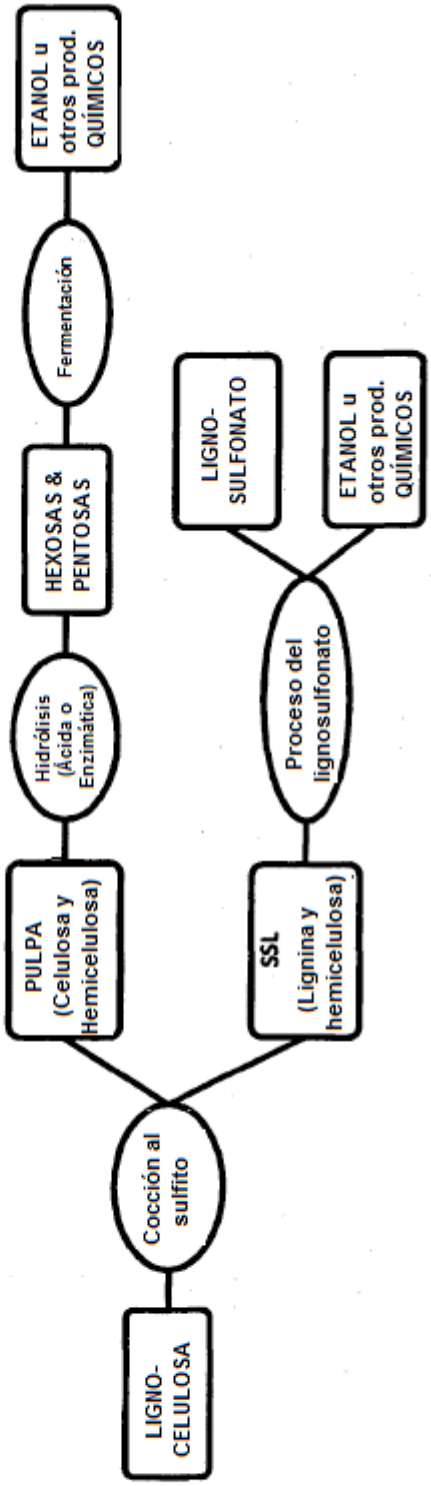

LIGNO-CELULOSA
Cocción al sulfito
PULPA (Celulosa y Hemicelulosa)
SSL (Lignina y hemicelulosa)
Hidrólisis (Ácida o Enzimática)
Proceso del lignosulfonato
HEXOSAS & PENTOSAS
LIGNO-SULFONATO
Fermentación
ETANOL u otros prod. QUÍMICOS
ETANOL u otros prod. QUÍMICOS

Figura 2:

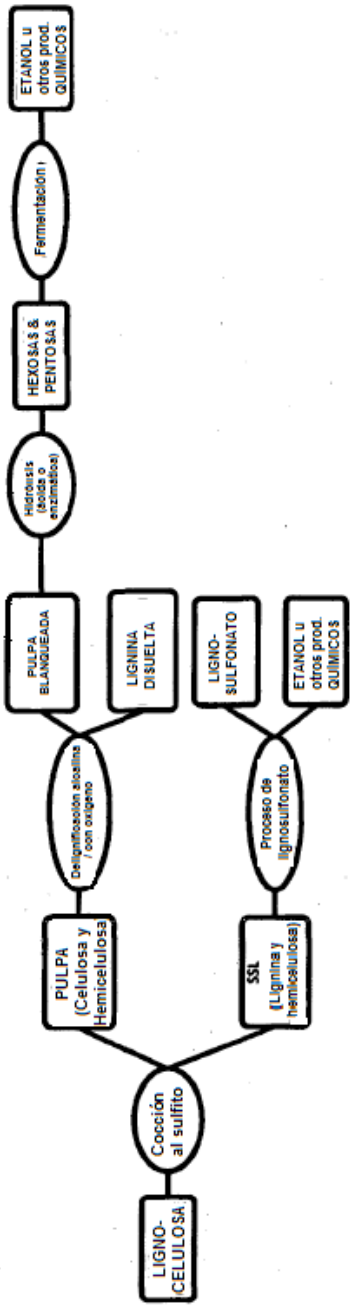

LIGNO-CELULOSA
Cocción al sulfito
PULPA (Celulosa y Hemicelulosa
SSL (Lignina y hemicelulosa)
Delignificación alcalina / con oxígeno
Proceso de lignosulfonato
PULPA BLANQUEADA
LIGNINA DISUELTA
LIGNO-SULFONATO
ETANOL u otros prod. QUÍMICOS
Hidrólisis (ácida o enzimática)
HEXOSAS & PENTOSAS
Fermentación
ETANOL u otros prod. QUÍMICOS

Figura 3

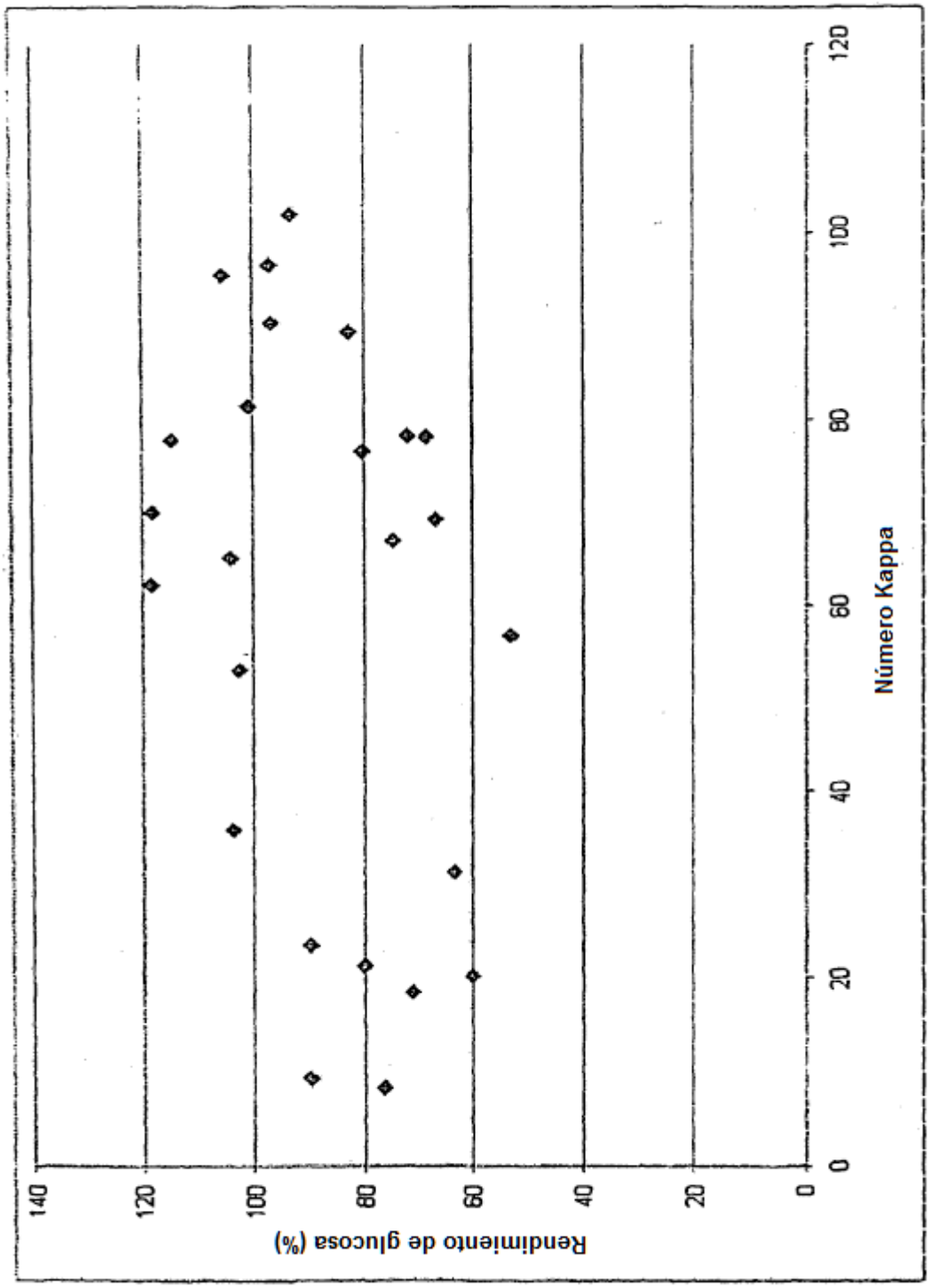
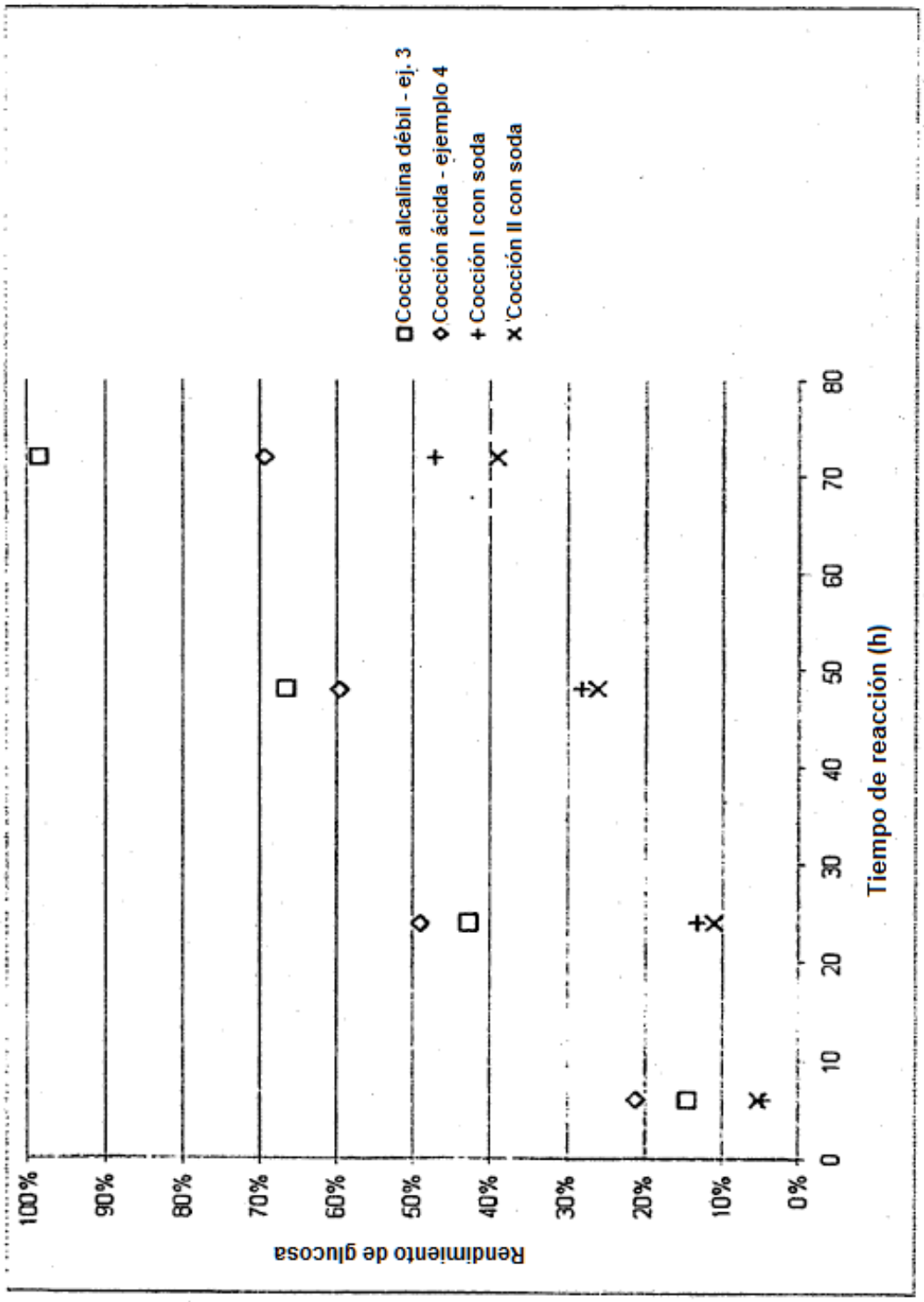

Rendimiento de glucosa (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
0
20
40
60
80
100
120
Número Kappa

Figura 4


Cocción alcalina débil - ej. 3
Cocción ácida - ejemplo 4
Cocción I con soda
Cocción II con soda
Rendimiento de glucosa
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
0
10
20
30
40
50
60
70
80
Tiempo de reacción (h)