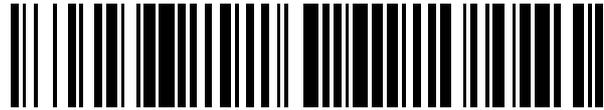


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 476 918**

51 Int. Cl.:

D21C 3/00 (2006.01)
C12P 19/14 (2006.01)
C12P 19/02 (2006.01)
C12P 7/10 (2006.01)
C13K 1/02 (2006.01)
C08B 1/00 (2006.01)
C08H 8/00 (2010.01)
D21C 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.03.2009 E 09727272 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.04.2014 EP 2274472**

54 Título: **Método simplificado para digestión de biomasa celulósica**

30 Prioridad:

01.04.2008 US 41379

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

15.07.2014

73 Titular/es:

**BIOMASS CONVERSIONS LLC (100.0%)
C/o Russell Roten 633 West Fifth Street, Suite
4600
Los Angeles, CA 90071, US**

72 Inventor/es:

HATA, SEIJI

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 476 918 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 simplificado para digestión de biomasa celulósica

5 La presente invención se refiere a un proceso para la conversión de biomasa celulósica en una mezcla fácilmente hidrolizable.

10 El documento WO 02/057317 (del solicitante) divulga un proceso para convertir biomasa celulósica en una mezcla fácilmente hidrolizable que comprende las etapas de combinar partículas de biomasa (polvo de celulosa o polvo de serrín, un polímero hidrófilo ("espesante", que es por ejemplo una dextrina) y agua para formar una mezcla de polímero-biomasa; y mezclar-amasar la mezcla de polímero-biomasa para convertir la biomasa en un material fácilmente hidrolizable.

15 El documento US 2003/225206 A1 divulga un proceso para obtener una disolución celulósica, que implica someter un polvo de celulosa y N-óxido de N-metilmorfolina, un disolvente celulósico, a mezcla en un amasador o dispositivo de extrusión con polvo de poli(alcohol vinílico).

20 El documento JP 11 302448 A divulga un proceso para obtener un material compuesto de celulosa que comprende celulosa y polímeros hidrófilos, pudiéndose usar el material compuesto como, por ejemplo, estabilizador de suspensión. El proceso comprende la co-molienda en húmedo de una materia prima de celulosa y una cantidad predeterminada de un polímero hidrófilo (por ejemplo, dextrina) en un molino de bolas centrífugo.

25 MOSIER N y col., BIORESOURCE TECHNOLOGY, ELSEVIER, GB, vol. 96, nº. 6, abril 2005, páginas 673-686 es una artículo de revisión de los métodos actualmente conocidos para pre-tratar biomasa celulósica antes del tratamiento enzimático para la producción de azúcares fermentables (y para la producción de sus biocombustibles). Se describen diferentes métodos físicos y químicos. Entre estos, se describe un método donde se añaden disolventes hidrófilos tales como glicerol o etilenglicol para modificar la estructura de celulosa y para favorecer la hidrólisis.

30 El documento WO 2007/084711 A divulga el uso de proteínas GR2 (grupo de polen de hierba -2/3 alérgenos) para modificar los materiales celulósicos y para mejorar la modificación química y enzimática de la celulosa.

Antecedentes de la invención

35 Durante las últimas décadas, se han sucedido repetidas advertencias sobre las sustituciones de energía. El patrón general ha sido el aumento brusco de los precios de la energía que ha dado como resultado un retroceso económico significativo que libera presión, de forma temporal, sobre las reservas energéticas. Al mismo tiempo, se han establecido medidas de conservación de energía de forma poco entusiasta. En el pasado, esto tuvo como resultado una disminución temporal de los precios de la energía de manera que se reanudó rápidamente un consumo de energía creciente y se olvidaron por completo las medidas de conservación de energía y planificación energética a largo plazo. Al mismo tiempo, el rápido desarrollo de China e India está sometiendo a las reservas energéticas a una presión cada vez mayor. Parece probable que esta demanda amortigüe la caída típica cíclica de los precios. Recientemente, el precio del barril de petróleo ha aumentado hasta un máximo de 150,00 \$, y parece que los precios podrían alcanzar de nuevo finalmente esos valores si no se mejora la conservación energética y se descubren nuevas fuentes de energía.

40 Además, las reservas energéticas son finitas. Las mejores estimaciones son las que apuntan a que las reservas de petróleo se agotarán en su mayoría dentro de cuarenta años más o menos. Incluso con el descubrimiento de nuevos yacimientos petrolíferos y la mejora de la recuperación de los yacimientos existentes, resulta altamente improbable que esta estimación se amplíe dos veces hasta ochenta años. De este modo, la escasez de mejoras drásticas en cuanto a eficacia o grandes esfuerzos de conservación hará que algunas personas que están actualmente vivas puedan contemplar el final de un mundo que gira en torno al petróleo igual que nuestros antepasados, de no muchas generaciones atrás, pudieron contemplar el final de la tecnología accionada por caballos. Algunos han depositado sus esperanzas en la energía nuclear. Desafortunadamente, las reservas de combustible nuclear también se encuentran particularmente limitadas, tomando en consideración los reactores nucleares ineficaces que actualmente se encuentran en uso. Además, el problema de los residuos nucleares sigue siendo tan crítico que nuestra civilización no podría depender de forma segura de la energía nuclear, incluso si las reservas de combustible fueran ilimitadas.

60 El dibujo de otros combustibles fósiles populares no es mucho mejor que el del petróleo. Se estima que las reservas actuales de gas natural se agotarán en aproximadamente sesenta años.

65 Incluso si se estima el doble de tiempo, parece que la amplia dependencia del gas natural concluiría en no más de ciento veinte años. Quizás, el carbón es el combustible fósil más abundante; se piensa que existen reservas para al menos 200 años. Esto significa que, a menos que se produzca el desarrollo temprano de tecnologías energéticas alternativas, nuestra civilización se convertirá en dependiente del carbón en los próximos cincuenta a cien años.

Aunque el carbón fue el primer combustible fósil que se desarrolló, ha sido sustituido en gran medida por el petróleo y el gas natural, debido a que la combustión de carbón resulta sucia y deja grandes volúmenes de ceniza. No se hace mención alguna sobre los terribles costes ambientales de la explotación de las minas de carbón.

5 No obstante, probablemente, el abandono del uso del carbón no se debe a la escasez del mismo. Más bien, son las consecuencias ambientales de la liberación continuada de dióxido de carbono fósil a la atmósfera. Este problema, con frecuencia denominado calentamiento global, es el resultado de la combustión de cualquier combustible fósil. Es probable que el petróleo se haya agotado antes de que se perciban los efectos más intensos de esta problemática. Probablemente, calentamiento global no es una buena expresión ya que aunque las temperaturas globales totales
10 están aumentando debido al exceso de dióxido de carbono en la atmósfera, el problema real no es el calentamiento en sí mismo sino el brusco cambio climático. El clima de la Tierra está siempre cambiando, unas veces de manera más rápida que otras. Por ejemplo, durante un pasado relativamente reciente tuvo lugar un cambio climático al final de la edad de hielo; este cambio climático aunque repentino debido a los patrones geológicos, fue suficientemente lento para permitir la adaptación de los organismos vivos al nuevo clima o la reubicación de los mismos en zonas de clima más favorable. De este modo, a medida que los glaciares retrocedieron y las temperaturas subieron, las especies "árticas" adaptadas a temperaturas frías se movieron hacia el norte o a ubicaciones más elevadas. Existen múltiples evidencias de que los cambios climáticos que se producen como consecuencia del uso de combustibles fósiles serán demasiado rápidos para permitir la reubicación de los organismos vivos. El resultado será la pérdida extrema de especies y diversidad biológica global, con una tasa de extinción de especies mucho más elevada que la
20 tasa de extinción de especies elevada provocada por la dispersión de nuestra civilización.

Hasta que se produzca el perfeccionamiento de alguna fuente energética completamente nueva, tal como la fusión, parecer que la mejor respuesta al enigma sería una mayor conservación acoplada con un uso exclusivo de los recursos energéticos renovables. La mayoría de la energía de nuestro planeta procede finalmente del sol. Por tanto,
25 la energía solar en forma de electricidad fotovoltaica y el calentamiento solar son ideales. No obstante, la energía solar directa no puede satisfacer todas nuestras necesidades. La energía hidroeléctrica y la energía accionada por el viento son otras dos formas de energía renovable basada en el sol. Ninguna de estos recursos energéticos tiene como resultado cambios en el dióxido de carbono de la atmósfera. La energía de la biomasa (es decir, madera y otros materiales vegetales) puede ser el complemento ideal para la energía solar. Esto parece resultar sorprendente debido a que, normalmente, la energía de la biomasa se obtiene por medio de la combustión de la misma, y dicha combustión libera dióxido de carbono a la atmósfera. No obstante, la biomasa es renovable. Si se llevan a cabo plantaciones verdes para producir biomasa, el nuevo material fijará rápidamente el dióxido de carbono liberado. De este modo, el dióxido de carbono se usa una y otra vez, y la cantidad total de dióxido de carbono atmosférico no
30 aumenta, como en el caso de la utilización de combustibles fósiles. El problema real consiste en el modo de integración de la biomasa en nuestras economías. Actualmente, existe un marcada escasez de trenes de vapor por combustión de madera y automóviles de combustión de madera. La combustión directa de biomasa en plantas de generación de energía tampoco es viable debido a que nuestros sistemas de generación de energía eléctrica se encuentran adaptados al uso de gas natural o petróleo líquido o incluso carbón pulverizado.

40 Se ha llevado a cabo un esfuerzo considerable para producir un combustible líquido (principalmente etanol) a partir de biomasa. Esto implica la fermentación de azúcares procedentes directamente de productos vegetales tales como maíz o indirectamente a partir de la digestión de biomasa celulósica para dar lugar a azúcares fermentables. Esta tecnología para la fermentación directa de azúcares se encuentra bien establecida. Actualmente, Estados Unidos se está desplazando hacia un sistema de combustible basado en etanol procedente de maíz. Mientras que este enfoque puede resultar políticamente favorecido por las áreas de plantación de maíz, presenta un fallo potencialmente fatal. El hecho de retirar maíz de los usos alimentarios puede dar como resultado un aumento muy importante del coste de los alimentos. Otro problema es el requisito considerable de fertilizantes nitrogenados para el cultivo eficaz del maíz. La fuente principal de los fertilizantes nitrogenados es un proceso industrial de alto consumo de energía que consume tanta energía como la contenida en el etanol procedente del maíz. Esto resulta
50 particularmente cierto debido a que únicamente se captura una parte de la energía de la planta de maíz por medio de la conversión del grano de maíz en etanol. Una parte importante de la energía se queda en la biomasa celulósica de la planta y no se convierte en etanol.

Probablemente, la mayor fuente potencial de energía renovable se encuentra en la biomasa celulósica. La
55 conversión de celulosa en azúcar fermentable resulta difícil y, actualmente, no es eficaz. Normalmente, se usan enzimas o ácidos para hidrolizar la biomasa celulósica con el fin de generar azúcares fermentables. El pre-tratamiento mecánico apropiado de la biomasa resulta esencial. En algunos procesos se pre-trata químicamente la biomasa y posteriormente se "hace explotar" por medio de cambios rápidos de temperatura y presión. Dichos procesos pueden crear grandes cantidades de residuos químicos peligrosos. Otros procesos cuecen las briquetas de madera en ácido en dispositivos, bastante similares a los que se usan para producir pasta papelera en la fabricación de papel. Hasta la fecha, no se ha demostrado que alguno de estos enfoques resulte altamente satisfactorio. El presente inventor ha intentado recientemente solucionar los problemas de la actual tecnología por medio de la reducción de la biomasa hasta partículas suficientemente pequeñas. El inventor descubrió que dichas partículas (denominadas micropolvo celulósico) se pueden hidrolizar de forma sencilla para dar lugar a azúcares y otros monómeros orgánicos, bien por medio de enzimas o bien por medio de hidrólisis química. Probablemente,
65 debido al tamaño de partícula muy pequeño, las enzimas hidrolíticas son mucho más eficaces que cuando actúan

sobre biomasa celulósica preparada de otras formas. El principal inconveniente de este enfoque parece ser la complejidad de los dispositivos usados para preparar el micropolvo y la energía consumida por los mismos. Por tanto, el inventor ha intentado desarrollar un método más eficaz para convertir biomasa celulósica en azúcares fermentables.

5

Sumario de la invención

El proceso de la invención que se define en la reivindicación 1, convierte biomasa celulósica en un estado de tipo gel que experimenta hidrólisis sencilla por medio de enzimas apropiadas. El inventor se refiere a este proceso como "acondicionamiento" o "co-solvatación". En primer lugar, se reduce mecánicamente el tamaño de la biomasa. Dependiendo de las características precisas de la fuente de biomasa, el proceso puede resultar útil sobre material donde la dimensión máxima sea menor de aproximadamente 2 mm. No obstante, se logran resultados óptimos con partículas de biomasa con una dimensión máxima inferior a 100 micrómetros, preferentemente dentro del intervalo de tamaño de 20-70 micrómetros. Por supuesto, el polvo de biomasa que tiene dimensiones más pequeñas funciona perfectamente, pero la mejora, si es que existe, derivada del uso de material que tiene dimensiones más pequeñas no parece justificar el esfuerzo adicional a la hora de reducir el tamaño de las partículas de biomasa. Posteriormente, se mezcla/amasa la biomasa con una disolución acuosa de polímero hidrófilo que actúa como agente de acondicionamiento o como co-disolvente. Se homogeneiza la mezcla resultante y se amasa, de manera que la celulosa (y la hemicelulosa) presente en la biomasa se hincha y se hidrata. Esto tiene como resultado un material de tipo gel viscoso. Posteriormente, se puede afinar el material procesado a través de la adición de agua una vez que se mezclan las enzimas hidrolíticas con el material. La viscosidad de la mezcla disminuye rápidamente a medida que se rompen los polisacáridos para dar lugar a azúcares libres. Si la biomasa se ha acondicionado de forma completa, tiene lugar la hidrólisis para dar lugar a azúcares libres en unas pocas horas o menos.

Las dextrinas (a modo de comparación) son polímeros hidrófilos eficaces para el acondicionamiento de biomasa. La experimentación ha demostrado que el líquido acondicionador inicial debería presentar una viscosidad significativa o el proceso de acondicionamiento debería ser extremadamente lento. El inventor piensa que un líquido viscoso lleva a cabo la transmisión de la energía de mezcla/amasado hasta la partícula de biomasa. Esta energía transmitida se ve implicada en la hidratación de la biomasa y provoca la ruptura de la estructura celular de las partículas de biomasa. Con las dextrinas, se logra la máxima eficacia de mezcla/amasado a una temperatura elevada (por ejemplo, 70-90 °C). En parte, esto se debe a la temperatura elevada que mantiene la mezcla flexible. A medida que la biomasa absorbe agua, la masa se vuelve más y más espesa. Si se deja enfriar la masa espesa, se puede endurecer por completo. En el caso de las dextrinas, resulta beneficioso añadir periódicamente pequeñas cantidades de agua para evitar que la masa se vuelva demasiado espesa. Se debería evitar la adición excesiva de agua debido a que se reduce mucho la viscosidad, y la velocidad del proceso de acondicionado se ralentiza en gran medida. La mejor práctica con los agentes acondicionadores de dextrina consiste en alternar adiciones de agua y biomasa con el fin de mantener las condiciones de proceso óptimas. El proceso resulta eficaz con mezclas que tienen de aproximadamente un 30 % a un 50 % en peso de biomasa. Generalmente, el proceso completo requiere 5-10 horas de mezcla/amasado.

40

El poli(alcohol vinílico) (PVA) es un agente acondicionador eficaz para su uso con biomasa. Parece que PVA puede ser más eficaz que las dextrinas y similar a los polisacáridos, quizás porque es posible convertir una disolución de PVA en un gel viscoso por medio de la adición de agentes tales como borato que reticulan en PVA. Cuando se mezclan/amasan las partículas de biomasa para dar lugar a un gel de PVA, el proceso de acondicionamiento transcurre rápidamente a temperatura ambiente. A diferencia del material acondicionado con dextrina, el material acondicionado de PVA mantiene su flexibilidad lo que permite el uso de una manipulación por laminado y apilado que mejora el procesado. Como con la dextrina, se puede añadir agua acondicionadora según sea necesario para controlar la viscosidad de la mezcla; no obstante, generalmente las adiciones de agua no son necesarias. Como el acondicionamiento de dextrina, el proceso de PVA puede manipular mezclas que tienen aproximadamente un 30-50 % en peso de biomasa. Generalmente, el procesado de PVA es más rápido que el proceso de dextrina y puede alcanzar la terminación en un período tan corto como una a dos horas. Tras el acondicionamiento, se afina el gel por medio de la adición de agua, después de lo cual se mezcla con enzimas hidrolíticas. Se reduce rápidamente la viscosidad de la mezcla por medio de hidrólisis enzimática que se completa, en gran medida, en menos de cinco horas, y se puede recuperar PVA a partir del líquido de hidrólisis y se puede reciclar.

55

Descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama de las etapas totales para llevar a la práctica el proceso acondicionador de la invención;

60

La Figura 2 es un diagrama de flujo que ilustra el uso de dextrina para procesar biomasa celulósica;

La Figura 3 es un diagrama de flujo que ilustra el uso de PVA para procesar biomasa celulósica;

65

La Figura 4 es un gráfico que muestra la hidrólisis enzimática de biomasa celulósica procesada con PVA;

La Figura 5 es un diagrama de flujo que contrasta la formación de gel en la dextrina frente al proceso de PVA; y

La Figura 6 es un diagrama de flujo del proceso total que usa PVA.

5 Descripción detallada de la invención

Se proporciona la siguiente descripción para permitir que cualquier persona experta en la técnica lleve a cabo y use la invención y explica los mejores modos contemplados por parte del inventor para llevar a cabo su invención.

10 La presente invención ha analizado los procesos usados para reducir almidón hasta azúcares fermentables. En una factoría que convierte maíz en etanol, en primer lugar se hidrata el almidón de maíz (principalmente un α 1-4 polímero de glucosa) por medio de "cocción" en agua. En presencia de agua a una temperatura elevada, los polímeros de almidón se hidratan y forman un gel. Generalmente, los polímeros de almidón son demasiado largos para volverse completamente solubles; no obstante, como gel hidratado los polímeros resultan fácilmente accesibles para el ataque enzimático. Las enzimas tal como α amilasa escinden los enlaces α 1-4 y reducen el gel de almidón hasta una disolución líquida de polímeros más cortos que contiene ramificaciones α 1-6 y azúcar simple (glucosa). La adición de gluco-amilasa escinde las uniones α 1-6 y completa la conversión de almidón en azúcar fermentable (glucosa).

20 Si fuera posible hidratar la biomasa celulósica de manera similar al almidón, debería ser posible convertir la celulosa hidratada en azúcares simples de manera mucho más eficaz. La industria tiene una gran experiencia con el tratamiento de celulosa, y generalmente se sabe que la hidratación de celulosa para dar lugar a un gel semi-soluble no resulta posible de manera sencilla. Si se cuece la biomasa celulósica (tal como briquetas de madera) y se agita a temperaturas elevadas en presencia de determinadas sustancias químicas, es posible separar la lignina de la celulosa con el fin de dar lugar a celulosa relativamente pura (pero todavía insoluble). Este es esencialmente el proceso usado para convertir briquetas de madera en pasta de papel. También se sabe que se pueden usar determinadas composiciones alcalinas y disolventes orgánicos tales como disulfuro para disolver realmente la celulosa. De manera más reciente, se han descubierto líquidos iónicos más benignos (tales como cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio) para disolver celulosa. Aunque cualesquiera de estos enfoques resulta útil para la regenerar celulosa para usos textiles o materiales (por ejemplo, celofán), estos compuestos son tóxicos y/o costosos y generalmente no son compatibles con enzimas para la reducción posterior de la celulosa disuelta para dar lugar a azúcares simples.

Por tanto, el inventor ha investigado un modo más simple y sencillo de hidratar la celulosa. Pareció probable que las regiones paracristalinas bien conocidas de la celulosa que se encuentran en la biomasa celulósica fueran al menos parcialmente responsables de la resistencia de la celulosa frente a la hidratación. En sus experimentos más preliminares con modificación de la biomasa celulosa en húmedo (véase el documento WO/2002/057317) y en seco (véase el documento WO/2007/106773), se ha demostrado que es posible modificar al menos parte de la celulosa paracristalina a través de la aplicación repetida de agua (el proceso húmedo) o incluso directamente a través de fuerza mecánica (el proceso seco). El inventor desarrolló la teoría de que la mezcla o amasado intenso de celulosa en presencia de una disolución acuosa de polímeros hidrolíticos podría combinar los efectos de sus procesos húmedos y secos. Un polímero hidrófilo podría aumentar la viscosidad del agua, permitiendo de esta forma una transferencia más eficaz de la energía mecánica a partir de la mezcla. De igual forma, la presencia de polímeros altera la constante dieléctrica del medio circundante lo que puede tener un efecto sobre la fuerza del enlace de hidrógeno. Esto es particularmente cierto debido a que las moléculas poliméricas hidrófilas interaccionan con las moléculas de celulosa superficiales y contribuyen al "pelado" de las mismas a partir de la masa insoluble de celulosa. Al mismo tiempo, los polímeros hidrófilos se intercalan entre las cadenas poliméricas de celulosa, alterando las regiones paracristalinas y mantienen la celulosa en forma semi-soluble hidratada. Esencialmente, el polímero hidrófilo actuaría como "co-disolvente" o "acondicionador" para la celulosa. Debería apreciarse que mientras el término "co-disolvente" se usa por comodidad, los polímeros hidrófilos no actúan como verdaderos disolventes en el sentido de proporcionar la celulosa en disolución de forma completa. En lugar de ello, los polímeros acondicionan la celulosa y la convierten en una forma de tipo gel que es susceptible de hidrólisis enzimática rápida. Como se demuestra a continuación, los polímeros hidrófilos no actúan como co-disolventes para la celulosa ya que simplifican en gran medida la cuestión de la conversión de la biomasa en una forma de celulosa que se puede hidrolizar de forma sencilla por medio de enzimas.

55 El perfil global del proceso se muestra en la Figura 1. En una primera etapa 10 se reduce el tamaño de la biomasa para facilitar las siguientes etapas del proceso. La preparación de la biomasa es relativamente simple: se retiran la suciedad, piedras, corteza y otros componentes no celulósicos de la mejor manera posible. Posteriormente, se reduce la biomasa "limpia" resultante o materia prima que es principalmente celulosa, por medio de corte o manipulaciones similares de manera que la dimensión más grande sea de aproximadamente 2 mm o menos. Las máquinas de corte descritas en las solicitudes de patente preliminares de los inventores son ideales para esta cuestión. El serrín u otra masa que tenga dimensiones sustancialmente menores de 2 mm se procesarán de manera más rápida. Aunque no resulta esencial reducir las dimensiones sustancialmente por debajo de 2 mm, se aprecia que existe una relación entre tiempo/energía consumidos en la etapa de amasado/mezcla y el tiempo/energía consumidos en la reducción de las dimensiones de la biomasa. Los mecanismos descritos en las solicitudes preliminares de los inventores (anterior) son ideales aunque otros aparatos apropiados resultarán evidentes para el

experto en la materia. Un tamaño preferido de la biomasa es menor de 2 mm de diámetro; un tamaño más preferido es menor de 1 mm de diámetro; y el intervalo de tamaño más preferido son partículas que tienen un diámetro de aproximadamente 20-70 micrómetros que es menor de 100 micrómetros. Generalmente, las células vegetales son menores de 100 micrómetros de diámetro, y un gran número de células vegetales están dentro del intervalo de 20-70 micrómetros. De este modo, es relativamente sencillo reducir la biomasa a partículas dentro del presente intervalo. Se apreciará que la biomasa bruta no es completamente un polímero de glucosa y celulosa. También contiene una cantidad variable de hemicelulosa (polisacáridos que contienen azúcares tales como xilosa, manosa, galactosa, ramnosa, glucosa y arabinosa así como también ácido manurónico y glacturónico). El azúcar predominante de la hemicelulosa es la xilosa de azúcar de pentosa. La mayoría de la biomasa también contiene lignina que es un polímero hidrófobo complejo de derivados de alcohol coniferílico, alcohol p-cumarílico y alcohol sinapílico (conocidos como lignoles). Se piensa que la lignina provoca la unión de las estructuras celulósicas y hemicelulósicas juntas.

En una segunda etapa 12 se mezclan las partículas de biomasa para dar lugar a un agente acondicionador de reacción de gel. Se mezcla o amasa la biomasa con el agente acondicionador, produciéndose durante ese tiempo la ruptura de la estructura celular de la biomasa. Se hidratan parcialmente la celulosa y la hemicelulosa y se altera la interacción entre estos polisacáridos y la lignina de manera que se rompen las estructuras microscópicas de la pared celular de la planta. El producto resultante es bastante viscoso de manera que la viscosidad se debe reducir por medio de la adición de agua. En la etapa 14, se mezclan las enzimas hidrolíticas, y la biomasa acondicionada se vuelve menos viscosa. Tras la hidrólisis enzimática glucosa 18 y xilosa 16 (y los otros monómeros de hemicelulosa) se encuentran en disolución. Lignina 20 se encuentra presente en forma de partículas pequeñas pero la estructura química de la lignina parcialmente modificada aún no se ha caracterizado. Se puede retirar la lignina por medio de filtración o centrifugación. Se pueden purificar los azúcares solubles por medio de métodos bien conocidos en la materia (por ejemplo, métodos cromatográficos) si se tiene que recuperar la xilosa (un producto natural valioso). Posteriormente, se somete la disolución de azúcares (ya sea antes o después de la separación) a fermentación alcohólica con levadura para producir etanol y esto también se conoce en la materia.

En primer lugar, el proceso se desarrolló empleando oligo-sacáridos como acondicionador de biomasa. Además, se ha demostrado que otros polímeros hidrófilos que actúan como co-disolventes que aumentan la viscosidad son incluso más eficaces; todos estos materiales no son caros y generalmente no son tóxicos. Los oligo-sacáridos actualmente preferidos son dextrinas (polímeros de α 1-4 glucosa relativamente cortos), maltodextrinas e incluso maltosa. A medida que aumenta la longitud polimérica, aumenta la viscosidad de una disolución acuosa del polímero de dextrina. Parece que la efectividad está relacionada con la cantidad de oligo-sacáridos que se necesita para lograr la viscosidad suficiente. En el caso de polímeros muy cortos, como maltosa, se usa una disolución muy concentrada para lograr resultados óptimos. Poli(alcohol vinílico) es el polímero hidrófilo actualmente preferido que no contiene hidratos de carbono.

El proceso que usa oligo-sacáridos toma biomasa preparada, añade la disolución de "co-disolvente" de dextrina y posteriormente mezcla la masa resultante a temperatura elevada (de aproximadamente 60 °C a 90 °C) hasta que se obtiene una mezcla viscosa de tipo gel traslúcida o transparente. Durante la mezcla, la biomasa pasa por una etapa de hinchamiento-hidratación. Finalmente, se "disuelve" la celulosa de manera más o menos completa para dar lugar a un gel viscoso. Con las dextrinas, generalmente el calentamiento es necesario para mantener la flexibilidad de la mezcla de biomasa.

En un experimento, se agitó una mezcla de un 10-20 % en peso de biomasa de tamaño reducido en un co-disolvente de dextrina y posteriormente se amasó (mezcló) a temperatura elevada (de aproximadamente 60 °C a 90 °C) hasta que se formó un gel viscoso. Por "amasar" se entiende un procedimiento de mezcla de un sólido y un líquido no diferente del que se aplica a la harina y agua en la formación de una masa de pan. Se puede usar un aparato de mezcla comercial similar a los apropiados para la producción de la masa basada en harina, con tal de que exista una forma de mantener la temperatura elevada. El inventor ha descubierto que los dispositivos de extrusión/mezcla de doble husillo que tradicionalmente se usan en la preparación de resinas plásticas para el moldeo por revestimiento o inyección resultan particularmente apropiados. Normalmente, se requiere una mezcla de aproximadamente una hora para hidratar la biomasa celulósica y transformarla en un gel transparente o traslúcido extremadamente viscoso. Si se usa celulosa purificada tal como papel de filtro como material de partida de ensayo, el gel resultante es incoloro y transparente. Normalmente, un número de burbujas de aire queda atrapado en el gel evitando que sea transparente al agua. De igual forma, los pigmentos vegetales y el material insoluble reducen la claridad del gel. El peso de sólidos de la mezcla puede alcanzar un 50 % y más.

Normalmente, la biomasa contiene lignina y hemicelulosa así como también celulosa. Si, por ejemplo, se mezcla bagazo (la pulpa que queda tras la extracción de azúcares procedentes de caña de azúcar machacada) con el co-disolvente de dextrina y se amasa durante aproximadamente una hora a temperatura elevada, el gel resultante tiene una tinte amarillento o marrónáceo y es menos transparente que el gel formado a partir de celulosa purificada. La inspección microscópica del gel revela que se han modificado en gran medida la mayoría de las estructuras celulares. No obstante, las células epidérmicas de la caña de azúcar se encuentran bastante silicificadas y parte de esta estructura celular sobrevive al proceso de amasado. Además, también pueden quedar pequeñas trazas de elementos vasculares altamente lignificados, aunque el procesado más largo provocará la desintegración completa

de los mismos.

Los experimentos con una variedad de materiales vegetales han demostrado que determinados materiales son más resistentes a la co-solvatación que otros. Se ha descubierto que se pueden lograr resultados significativamente más rápidos comenzando con polvos de biomasa donde el tamaño de partícula se encuentra dentro del intervalo de 20-70 micrómetros de diámetro, es decir menos de 100 micrómetros. Una variedad de dispositivos de procesamiento mecánico puede reducir de forma sencilla la biomasa a partículas dentro de este intervalo de tamaño sin el procesamiento deseado. Los dispositivos usados en las solicitudes de patente preliminares de los inventores se encuentran disponibles. Como se divulga en esas patentes, resulta más difícil reducir la biomasa a un intervalo de tamaño micrométrico o sub-micrométrico. La ventaja del proceso actual es que capta y procesa de forma óptima partículas de biomasa que se pueden producir de forma sencilla por medio de los dispositivos mecánicos comunes.

El amasado de biomasa con co-disolvente de dextrina, en particular a temperatura elevada, tiene como resultado la conversión de celulosa sólida para dar lugar a un gel viscoso o masa, no completamente diferente de la conversión de almidón para dar lugar a un gel tras la cocción, al menos en cuanto a aspecto. Se ha determinado que las mezclas que tienen niveles más elevados de biomasa se pueden solvatar de manera más eficaz; parece que la solvatación ocurre de manera más sencilla en disolución viscosa. Es necesario la temperatura elevada para mantener la flexibilidad de dichas mezclas viscosas, y si se dejan enfriar, tienden a solidificar. El inventor piensa que el nivel elevado de viscosidad durante el amasado provocado por la biomasa añadida aumenta la tasa de solvatación. La siguiente etapa del proceso es análoga al proceso de almidón, concretamente a la licuefacción del gel. En la mayoría de los casos, la biomasa amasada es tan viscosa o adopta una forma de tipo masa que es necesario añadir agua para reducir la viscosidad antes de la adición de enzimas.

Con el gel de celulosa, se logra la licuefacción por medio de la adición de enzimas de licuefacción (endo-celulasas y endo-glucanasas) al gel con mezcla continuada. Tras la licuefacción del gel, se añaden enzimas de sacarificación (exo-celulasas y celobioglucanasas y β -glucanasas mixtas) para reducir la celulosa restante a glucosa libre. También es posible añadir ambos tipos de enzimas de forma simultánea de manera que trascurren la licuefacción y la sacarificación al mismo tiempo. Las enzimas favorecidas con las producidas por *Trichoderma reesii* y *viride* así como las especies de *Aspergillus*, *Acremonium* y *Penicillium*. Se usaron enzimas (por ejemplo, Meicellase, una mezcla de enzimas de *T. viride* que contienen celulasas, xilanas, β -glucosidasa y α -L-arabinosidasa) de Meiji Seika Co. Ltd. de Tokyo, Japón, en varios experimentos aunque también pueden servir las enzimas apropiadas procedentes de otros microorganismos y fuentes comerciales. Es importante apreciar que el presente proceso convierte la celulosa en una forma que es más fácilmente hidrolizable por esencialmente cualquier enzima que tenga la especificidad apropiada. Generalmente, el peso de la enzima añadida es de aproximadamente 1/100 del peso de la materia prima celulósica. Dependiendo de la enzima concreta usada, la reacción óptima tiene lugar entre aproximadamente 45 °C y 60 °C. Resulta evidente para el experto en la materia que existe un solapamiento considerable en cuanto a los tipos de actividad enzimática entre las enzimas de licuefacción y sacarificación; por tanto, las enzimas de licuefacción liberan una cantidad significativa de azúcar libre.

Ahora se describe con detalle un experimento típico. Se produjo una disolución de partida de jarabe de dextrina en agua por medio de la adición de 50 g de dextrina (por ejemplo, maltosa) a 12,5 g de agua (una disolución de un 80 % en peso). Las dextrinas con puntuaciones de DE elevado (equivalentes de dextrosa) producen disoluciones con viscosidad elevada y son eficaces a un porcentaje de peso más bajo. Esto muestra que la viscosidad del co-disolvente es importante con disolventes más viscosos, resultando marcadamente más eficaz. Por supuesto, los co-disolventes viscosos pueden tener la desventaja de dar lugar a una mezcla de biomasa/co-disolvente demasiado viscosa para la mezcla o amasado. Normalmente, el pH de la etapa de hinchamiento e hidratación se encuentra próximo a la neutralidad. En el presente experimento, la proporción en peso entre celulosa y dextrina fue de al menos 5:2. Inicialmente, se añadieron 10 g de celulosa (en forma de papel de filtro cortado en cuadrados de 1 cm) a la disolución de dextrina y se mezcló-amasó la mezcla resultante a 80 °C durante aproximadamente una hora. La celulosa se hinchó por medio del presente proceso, dando lugar a una gel transparente o "masa". Si se enfría el gel hasta temperatura ambiente en este momento, la viscosidad aumenta de forma significativa. Al menos se añadieron posteriormente unos 10 g adicionales de celulosa (mezcla de celulosa de un 20 % en peso) y de absorbieron en el gel durante un período de tiempo similar. Durante el procesamiento posterior se añadió lentamente una cantidad relativamente pequeña de agua (en este caso 5 ml) para disminuir temporalmente la viscosidad y mejorar la facilidad de procesamiento. La menor viscosidad permite una mezcla más intensa incluyendo el "batido", en el cual la disolución encuentra tensiones de cizalladura para contribuir a la ruptura de las fibrillas y otras estructuras de pared de celular vegetal. A medida que se hincha más y más la celulosa y se hidrata, aumenta la viscosidad y se añadió una alícuota adicional de agua (en este caso 10 ml), disminuyendo de este modo de nuevo la viscosidad. En este momento, se añadió otra alícuota de celulosa y se repitió este bucle de adición (véase la Figura 1) entre 5 y 10 veces. A medida que aumenta la cantidad de celulosa, disminuye ligeramente el tiempo de procesamiento para cada iteración. Cuando se repite el proceso de adición cinco veces, la disolución final es de aproximadamente un 30 % en peso de celulosa.

La mezcla-amasado (incluyendo las fuerzas de cizalladura de "batido") tiene el efecto mecánico de reducir el material biológico (paredes celulares vegetales) hasta fibrillas y sub-fibrillas. Al mismo tiempo, el calor y el co-disolvente contribuyen a la ruptura de las regiones paracristalinas de celulosa para dar lugar a regiones solubles. Las fibrillas restantes se hinchan y se separan durante este proceso, absorbiéndose por completo finalmente en el

gel-disolución. Dependiendo del modo de mezcla-amasado y de las fuerzas de cizalladura de "batido" que se aplican, se puede aumentar la velocidad de proceso pero la configuración mecánica exacta del equipo de procesado no es crítica. La adición periódica de agua (véase la Figura 2) contribuye a disminuir la viscosidad excesiva, logrando de esta forma el hinchamiento e hidratación más rápidos posibles. Sorprendentemente, parece que la presencia de lignina en la biomasa natural contribuye a este proceso. Si se retira químicamente la lignina como en la fabricación de papel, las moléculas de celulosa son más resistentes al hinchamiento y la hidratación. Esto implica que la estructura de celulosa se vuelve más rígida o resistente a la solvatación tras la eliminación de lignina.

Cuando se completa el hinchamiento y la hidratación, se rebaja la temperatura hasta 60 °C (o menos, véase anteriormente) y se añaden enzimas de licuefacción para formar una disolución de enzimas de un 0,02 % en peso. El gel se licúa por completo en aproximadamente 30 minutos de mezcla adicional. Posteriormente, se rebaja la temperatura hasta aproximadamente 50 °C y se añaden las enzimas de sacarificación para preparar una disolución de enzimas de aproximadamente un 0,05 % en peso y se ajusta el pH a un valor de 4,5. La proporción en peso de enzima con respecto a biomasa fue de aproximadamente 1:100. Tras 3 h de mezcla continuada, la conversión de celulosa en glucosa fue de al menos un 80 %, se obtuvo parte de hidrólisis adicional con una incubación más prolongada. Si se incluyen enzimas apropiadas, también se produce la hidrólisis de hemicelulosas hasta sus azúcares constituyentes. Se apreciará que cantidades menores de enzimas pueden resultar eficaces, pero tienen como resultado tiempos de procesado más largos. Se deberían variar los tiempos, las temperaturas y el pH dependiendo de las enzimas concretas empleadas.

Por medio del presente proceso de dextrina, se han sometido a ensayo papel de filtro, briquetas de madera blanda de ciprés japonés (*Cryptomeria*) (2 mm), forraje de maíz, bagazo, paja de sorgo dulce, paja de arroz, cáscara de arroz y residuo de aceite de palma (EFB o racimos de fruta vacíos de palma). Todos estos materiales de biomasa se pueden disolver por medio del presente método de co-disolvente. Se piensa que el método funciona con básicamente cualquier biomasa celulósica. La Tabla 1 muestra los resultados con un número de partículas celulósicas diferentes (de diámetro de 20-70 micrómetros producidas como se detalla anteriormente). Se añadió un peso concreto de polvo a una disolución concreta de un 82 % en peso y se mezcló/amasó como se ha descrito anteriormente. Se llevaron a cabo una o más adiciones de agua como se ha descrito anteriormente. Las adiciones de agua fueron necesarias por la viscosidad durante el amasado. Los materiales fácilmente solvatados fueron menos viscosos y requirieron menos (o nada) de adición de agua.

Tabla 1

Materia prima	Dextrina	Adición 1	Adición 2	Adición 3
EFB 50 g	50 g	-	-	-
Forraje de maíz 50 g	90 g	11,87 g	9,05 g	-
Cáscara de arroz 50,61 g	50,25 g	4,54 g	4,65 g	6,80 g
Paja de arroz 50,86 g	72,05 g	4,94 g	6,05 g	7,81 g
Paja de sorgo 50,55 g	90,74 g	5,62 g	7,29 g	7,61 g

Tras la operación de amasado, se hidrolizó cada gel-masa resultante. En primer lugar, se diluyó el material con 2 partes de agua destilada con respecto a 1 parte de biomasa amasada (en peso) y se agitó (100-400 rpm) en un recipiente de reacción para producir una suspensión. Se ajustó el pH del material hasta casi neutralidad (pH 6,5) y se calentó el material hasta 60 °C durante al menos una hora para someterlo a pasteurización. A continuación, se permitió el enfriamiento de la biomasa agitada por debajo de aproximadamente 50 °C y se añadieron Meicellase a una proporción en peso de 1:100 (enzima con respecto a biomasa) y enzima rica en β -glucosidasa (también en una proporción en peso de 1:100) y se agitó la suspensión durante 24 h. Nótese que la licuefacción y la sacarificación tuvieron lugar de manera simultánea. Se retiraron periódicamente las muestras y se sometieron a ensayo por medio de HPLC. Estos resultados mostraron que la hidrólisis fue de más de un 50 % a las 6 horas, y de un 80 % a casi un 100 % en 20 horas. Estos resultados muestran que el grado de terminación de la hidrólisis depende del material de partida. Además, los resultados muestran que la mayoría de la hidrólisis tiene lugar en las primeras horas y posteriormente se ralentiza.

El inventor piensa que la velocidad y el alcance de la hidrólisis enzimática mostrados en los experimentos anteriores son un indicativo de que la co-solvatación de la celulosa no es completa. La celulosa que se co-solvata se hidroliza de forma rápida en las primeras horas. Posteriormente, la celulosa parcialmente co-solvatada restante se hidroliza más lentamente. Se sabe en la técnica que la mezcla de enzimas usada puede lograr la hidrólisis de la biomasa no tratada si se proporciona el tiempo suficiente. Como cabría esperar, la tasa de dicha hidrólisis depende del tamaño de partícula de la biomasa (efecto de superficie/volumen). Por ejemplo, las partes completas de la planta pueden tardar muchos días o más en mostrar una hidrólisis enzimática significativa. El material de biomasa con diámetros máximos dentro del intervalo de 1-2 mm muestran hidrólisis significativa de unos pocos días a una semana. Generalmente, el material dentro del intervalo de tamaño sometido a ensayo en la presente memoria (20-70 micrómetros) muestra una hidrólisis significativa en 2-3 días. Basándose en los resultados presentados en la presente memoria, la biomasa que está totalmente co-solvatada debería mostrar hidrólisis completa en unas pocas horas como máximo. No obstante, resulta evidente, que el proceso de solvatación con co-disolvente de dextrina

acelera en gran medida la velocidad de la hidrólisis de celulosa.

El inventor piensa que un inconveniente del uso de dextrina como co-disolvente es la necesidad de usar una disolución muy concentrada para proporcionar la viscosidad suficiente con el fin de provocar una co-solvatación eficaz tras el amasado-mezcla. Esta disolución concentrada provoca que un gel que tiene un nivel elevado de biomasa adopte una forma más parecida a una masa a medida que avanza la solvatación. Esto requiere una mayor temperatura y la adición de agua para permitir un amasado eficaz. Incluso si se deja la masa sin mezclar y se permite el enfriamiento, se vuelve un sólido inflexible. Por tanto, el inventor ha buscado un co-disolvente hidrófilo que produciría una viscosidad adecuada a una concentración de co-disolvente más baja. Con dicho co-disolvente, la absorción continuada de agua por medio de la biomasa a medida que se hidrata y se co-solvata, no tendría como resultado el endurecimiento de la mezcla. Esto permitiría que el amasado continuara hasta que esencialmente toda la celulosa se haya hidratado y co-solvataado. Uno de dichos co-disolventes viene representado por medio de dextrina con un número DE elevado (como se ha mencionado anteriormente). No obstante, el inventor piensa que los polímeros hidrófilos tales como poli(alcohol vinílico) (PVA) proporcionan una disolución incluso más eficaz. El inventor ha sometido a ensayo varios tipos de PVA (en forma de disolución acuosa con concentraciones de un 5%, 10 % y 20 % en peso). Se produjo el PVA sometido a ensayo por medio de Kuraray Chemical Co., Ltd. (Osaka, Japón) y se comercializó en forma de Poval 105, Poval 117, Poval 205 y Poval 217. El primer número del nombre del producto se refiere a PVA de tipo 1 o tipo 2. PVA tiene un nivel de hidrólisis de un 98-99 %, mientras que PVA de tipo 2 tiene un nivel de hidrólisis de únicamente un 87-89 %. El segundo número se refiere al tamaño del polímero. El material con "05" en sus nombres de producto tiene números medios de polimerización de 500 mientras que los productos 117 tienen números de polimerización de 1700. La viscosidad de la disolución se ve afectada tanto por el grado de hidrólisis como por el grado de polimerización (número de polimerización). A medida que aumenta el grado de polimerización, una disolución de porcentaje en peso concreto se vuelve más viscosa. No obstante, a medida que aumenta el nivel de hidrólisis a un número de polimerización concreto, la viscosidad de la disolución disminuye.

Una propiedad interesante de PVA es que se puede reticular por medio de un número de sustancias químicas tales como boratos, acetato de titanio, cobre y otras sales metálicas. La reticulación tiene lugar bien por medio de un puente de carga con boratos en los cuales se unen cuatro cargas negativas del borato a cargas positivas en el PVA o la formación de un sitio de enlace metálico de puente en el caso de las sales metálicas. La capacidad para producir PVA reticulado, que es un fluido no newtoniano y viscoso, permite el uso de un co-disolvente polimérico hidrófilo con una viscosidad inicialmente elevada que no se vuelve excesivamente espeso e incluso sólido, durante el amasado y hace que la biomasa experimente co-solvatación con la dextrina. Cuando se combina una disolución de PVA de un 5 % en peso con una disolución saturada de borato de tetra-sodio (entre 0,5 y 1 parte de disolución de borato hasta 1 parte de disolución de PVA), se produce un "limo" apto para procesado. Este material permanece relativamente plástico cuando se añade y se amasa biomasa en forma de polvo (partículas de 20-70 micrómetros de diámetro). Se puede amasar u homogeneizar la mezcla resultante o incluso se puede presionar repetidamente entre rodillos hasta que el material de biomasa se haya hidratado o co-solvataado por completo.

La Figura 3 muestra el proceso que usa el limo de PVA. En un ejemplo típico, se preparó una disolución de un 10 % en peso de PVA-205 con agua destilada. Se agitó la mezcla y se calentó hasta aproximadamente 70 °C para introducir el PVA en la disolución. La disolución resultante fue solo ligeramente más viscosa que el agua. Una vez que se hubo enfriado la disolución hasta temperatura ambiente, se añadieron y mezclaron 2 ml de disolución acuosa saturada de ácido bórico (H_3BO_3). La disolución resultante tuvo un pH de 5,0. Se añadió y mezcló una pequeña cantidad de disolución acuosa saturada de borato de sodio (aproximadamente 0,5 ml). El limo viscoso resultante tuvo un pH de 6,5. Se añadió EFB (racimos de fruta vacíos de aceite de palma) (partículas de 20-70 micrómetros de diámetro) a este gel y se amasó a temperatura ambiente. El gel resultante fue relativamente blando pero a medida que continuó el amasado, se perdió agua (20 g - 30 g) en forma de vapor y se absorbió agua por parte de la biomasa de manera que el gel se volvió más parecido a una masa. El material se pudo estirar en plano con rodillo y apilar de manera sencilla. Se dobló el material apilado para romper la masa que posteriormente se juntó y se estiró con rodillo de nuevo. Se retiraron pequeñas alícuotas de material de vez en cuando, de diluyó con agua y se examinó al microscopio. Fue posible observar un tamaño de partículas decreciente y las estructuras celulares rompiéndose a medida que transcurrió el procesado. El proceso de ruptura fue rápido en el gel espeso pero estuvo ausente en el gel fino. Esto sugiere que la transmisión de la fuerza mecánica es una parte esencial del proceso. La adición de una parte más grande de polvo de biomasa aumenta la viscosidad y acelera el proceso. El contenido óptimo de sólido de biomasa parece ser de aproximadamente un 40 % en peso. Cantidades menores de biomasa tienden a producir un material que es demasiado fino para el amasado y el estirado con rodillo de forma eficaz. Cantidades elevadas de biomasa pueden producir una masa que sea demasiado viscosa para el procesado eficaz. También se pueden usar concentraciones variables y tipos de PVA para modular la viscosidad. En condiciones óptimas, el procesado de amasado se completa en aproximadamente una hora. Generalmente, esto es mucho más rápido que el procesado de dextrina que puede tardar una hora para cada adición de celulosa.

Una vez que el amasado fue completo (como se aprecia por medio del microscopio), se mezclaron aproximadamente 130 ml de agua destilada con el gel-masa resultante para reducir su viscosidad. A continuación, se añadió una pequeña cantidad de HCl para ajustar el pH hasta un valor de 6,0 debido a que las enzimas hidrolíticas prefieren un medio bastante ácido. El líquido resultante fue de viscosidad uniforme similar a la del chocolate fundido. Se añadieron Meicellase (Meiji Seika Co. Ltd.) y Acremonium cellulase (una celulasa comercial

preparada a partir del hongo *Acremonium cellulolyticus* y obtenida a partir de Meiji Seika Co. Ltd.) en una proporción en peso de enzima con respecto a biomasa de 1:100 para cada mezcla de enzima. Se agitó la mezcla resultante en un recipiente de reacción a una temperatura de 50 °C. En cuestión de minutos desde la adición de enzimas, la viscosidad de la mezcla disminuyó de forma notable. La Figura 4 es un gráfico de tiempo que ilustra la hidrólisis de la biomasa con el tiempo. Se obtuvo la hidrólisis en porcentaje por medio de la comparación de la cantidad actualmente medida de azúcares reductores con la cantidad teórica de dichos azúcares disponibles en la biomasa procedente de la hidrólisis de polisacáridos. La ventaja de este enfoque con respecto a uno donde la determinación del grado de hidrólisis está basado estrictamente en el peso es que elimina de forma automática los componentes no hidrolizables (por ejemplo, las inclusiones minerales, cutícula, lignina, etc.). El inconveniente es que el 100 % de la figura está basado en la cantidad teórica, y es bastante improbable que las muestras actuales de biomasa contengan precisamente la cantidad calculada de polisacáridos hidrolizables. El gráfico muestra que la hidrólisis transcurre de forma rápida y que es bastante completa trascurridas 4 horas. A las 4 horas, las hidrólisis calculada fue de un 87 %, mientras que a las 16 horas el porcentaje de hidrólisis aumentó únicamente un 9 % adicional hasta un porcentaje de terminación de un 96 %. Parece probable que el 9 % de mejora se deba a una hidrólisis más lenta de las partículas que no se han roto por completo por medio del tratamiento acondicionador de PVA. Si eso es cierto, un amasado más duradero disminuye el tiempo total de hidrólisis. Actualmente, no se sabe si queda algo de polisacárido hidrolizable trascurridas 20 horas, debido al error inherente en el método de cálculo. El residuo se analiza para descubrir el nivel verdadero de hidratos de carbono residuales.

En cualquier caso, se demuestra en la presente memoria que se puede lograr la hidrólisis casi total en unas pocas horas. El proceso de PVA logra un acondicionamiento/ruptura más rápido de la biomasa, en comparación con el proceso de dextrina y, el proceso óptimo tiene lugar a temperatura ambiente. Aunque el procesado sea más rápido, la hidrólisis es también más completa. La combinación óptima de tiempo de procesado y cantidad de enzima vs. tiempo de hidrólisis todavía no se ha logrado de forma probable. El experto en la materia apreciará que el objetivo es el proceso más rápido con el coste más bajo. La disminución del tamaño de partícula de la biomasa inicial tiene como resultado un aumento de la velocidad del proceso de acondicionamiento/amasado. No obstante, la disminución del tamaño de partícula requiere tiempo y energía. El aumento del tiempo de acondicionamiento/amasado reduce el tiempo de hidrólisis y la cantidad necesaria de enzima, pero el amasado/acondicionamiento más allá del punto de ruptura de las estructuras celulares resulta de escaso o nulo beneficio. Una vez que se ha logrado el acondicionamiento/amasado óptimo, se puede reducir la cantidad de enzima aumentando el tiempo de hidrólisis. En un proceso escalado en el mundo real, se ajustan varios factores y se seleccionan para minimizar costes (tiempo, energía, trabajo y costes materiales).

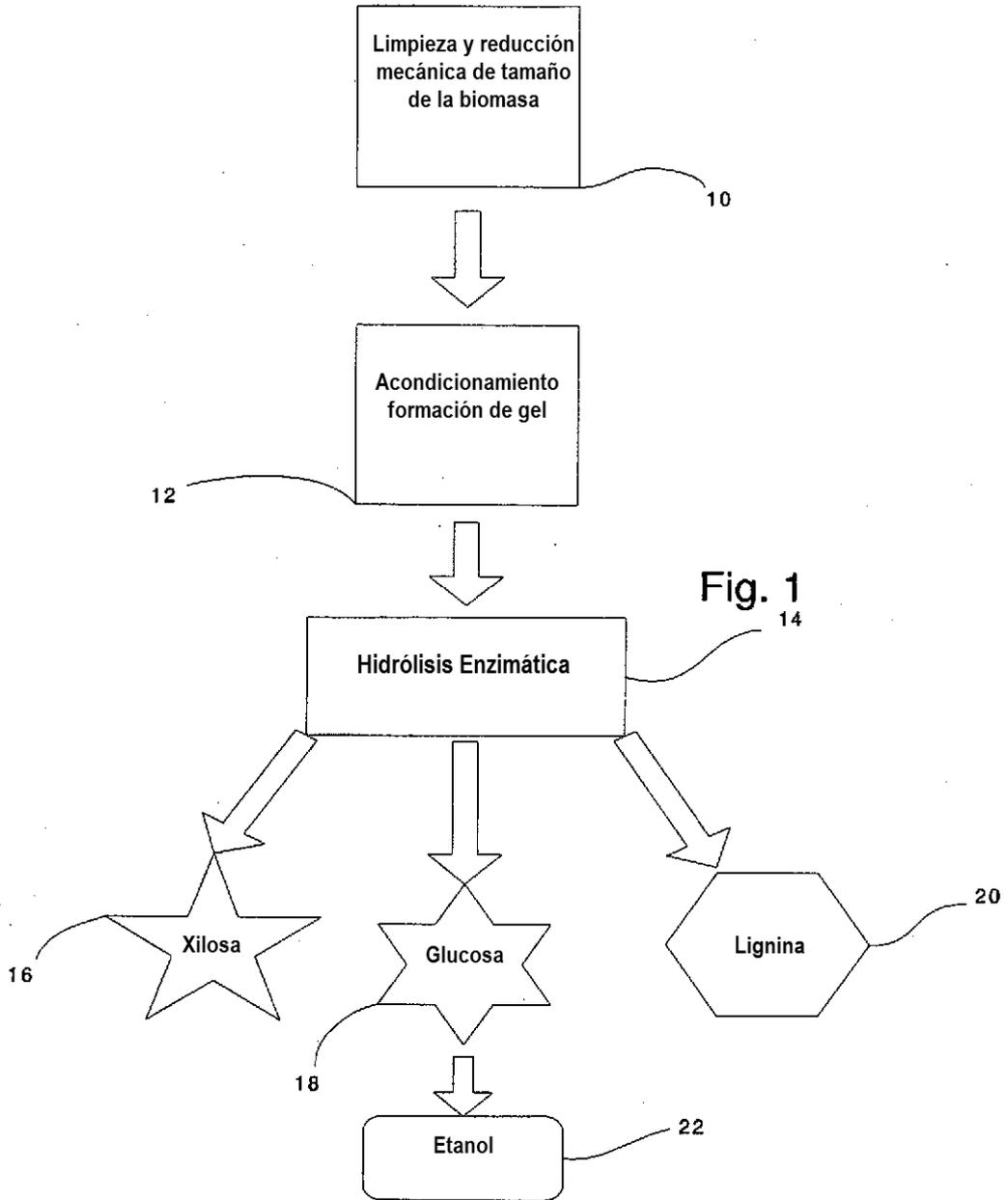
Conceptualmente, el proceso de dextrina difiere del proceso de PVA en que con la dextrina, aunque la disolución de partida de dextrina es bastante viscosa, no es de tipo gel. Con el proceso de dextrina, la dextrina y la biomasa se mezclan a temperatura elevada y se forma un gel. Se piensa que la presencia de un gel aumenta en gran medida la capacidad de mezcla mecánica (amasado) para modificar la celulosa. Con el proceso de PVA, en primer se reticula la disolución de PVA por medio de la adición de borato para formar un gel. Posteriormente, se mezcla la biomasa con este gel. Debido a que se pre-conforma el gel, la acción de acondicionamiento es mucho más rápida y eficaz. Las diferencias entre los procesos se ilustran esquemáticamente en la Figura 5.

La Figura 6 muestra una versión de la Figura 1 actualizada para mostrar la distribución del proceso de PVA. En primer lugar, se reduce la materia prima de biomasa hasta un tamaño de partícula óptimo (polvo) (etapa 10). Nótese que con PVA la formación de gel y las etapas de acondicionamiento están separadas. En la etapa 11 se forma un gel de PVA por medio de reticulación de PVA. En la etapa 13, se añade polvo de biomasa al gel de PVA y la mezcla-amasado garantiza la hidratación de la celulosa y la ruptura de las estructuras celulares. Tras el acondicionamiento, se añade agua en la etapa 15 para reducir la viscosidad. Se mezclan las enzimas 14' y tiene lugar la hidrólisis en la etapa 14. En la etapa 19 se separa la lignina 20 a partir de los azúcares 17 C5 y C6. La adición de levadura comienza la fermentación 21 que produce etanol 20 (que se separa de la mezcla por medio de destilación dejando xilosa 16 que se puede recuperar a partir de la mezcla de levadura). Alternativamente, se puede separar la xilosa a partir de los azúcares mixtos 17, por ejemplo, por medio de cromatografía. Tanto etanol como xilosa son productos valiosos. También se puede observar lignina bien como producto para comercializar para usos químicos o bien se puede someter la lignina a combustión para la liberación directa de energía.

55

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para convertir biomasa celulósica en una mezcla fácilmente hidrolizable que comprende las etapas de:
- 5 formar un gel por medio de reticulación de una disolución acuosa de poli(alcohol vinílico);
 combinar partículas de biomasa con el gel de poli(alcohol vinílico) reticulado para formar una mezcla de gel-biomasa; y
10 homogeneizar-amasar la mezcla de gel-biomasa hasta que la biomasa se convierta en biomasa hinchada e hidratada en un estado de tipo gel susceptible de hidrólisis enzimática.
2. El proceso de la reivindicación 1, donde se forma gel de poli(alcohol vinílico) por medio de adición de iones de borato a la disolución acuosa de poli(alcohol vinílico).
- 15 3. El proceso de la reivindicación 1, donde las partículas de biomasa tienen diámetros medios menores de aproximadamente 100 micrómetros.
4. El proceso de la reivindicación 3, donde las partículas de biomasa tienen diámetros medios de aproximadamente 20-70 micrómetros.
- 20 5. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, donde se añaden enzimas de licuefacción y sacarificación a la biomasa hinchada e hidratada para licuarla e hidrolizarla dando lugar a azúcares libres.
- 25 6. El proceso de la reivindicación 1, donde las partículas de biomasa constituyen aproximadamente un 40 % en peso de la mezcla de gel-biomasa.
7. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, que además comprende una etapa de adición periódica de agua para reducir la viscosidad de la mezcla de gel-biomasa.
- 30



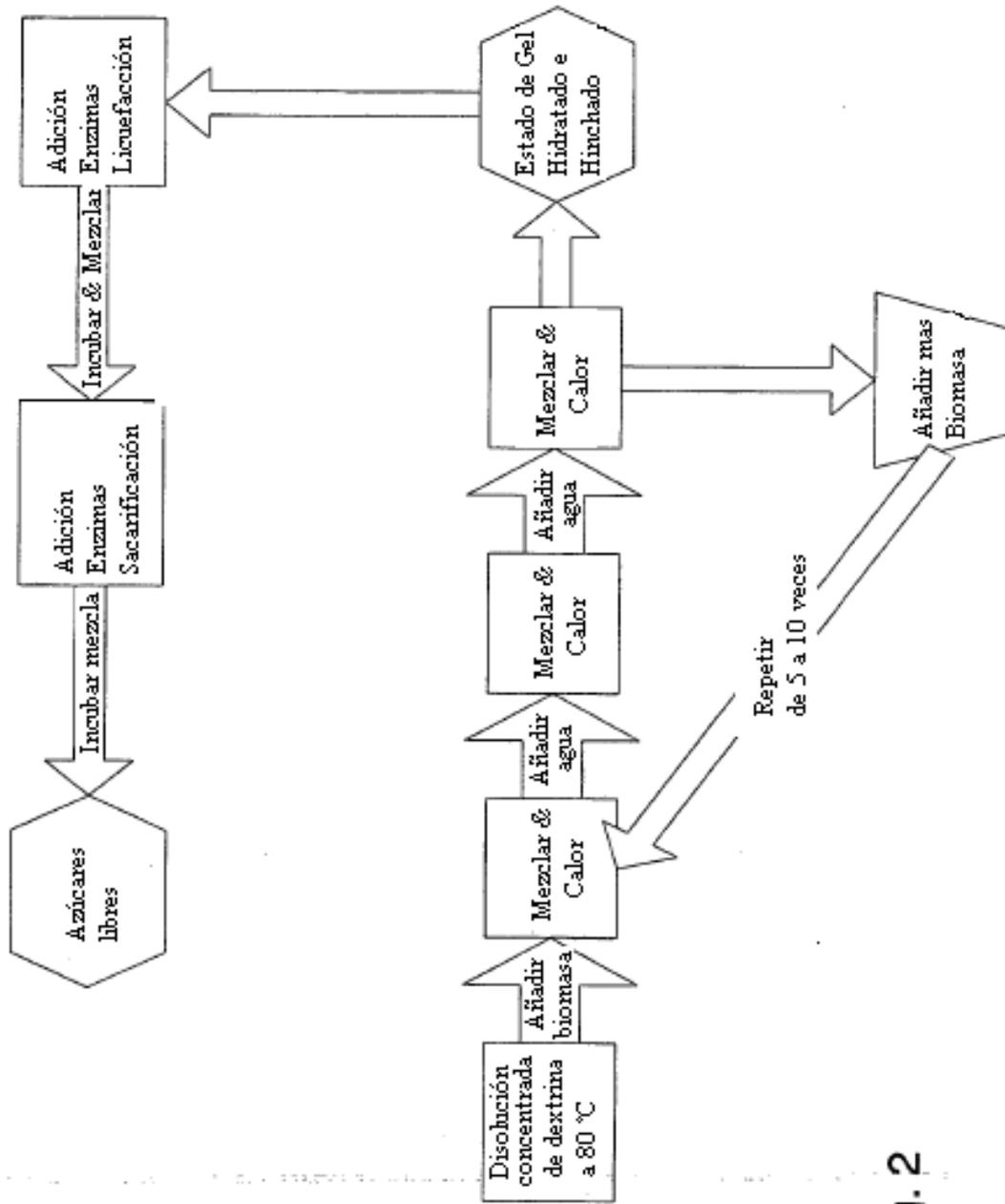


Fig. 2

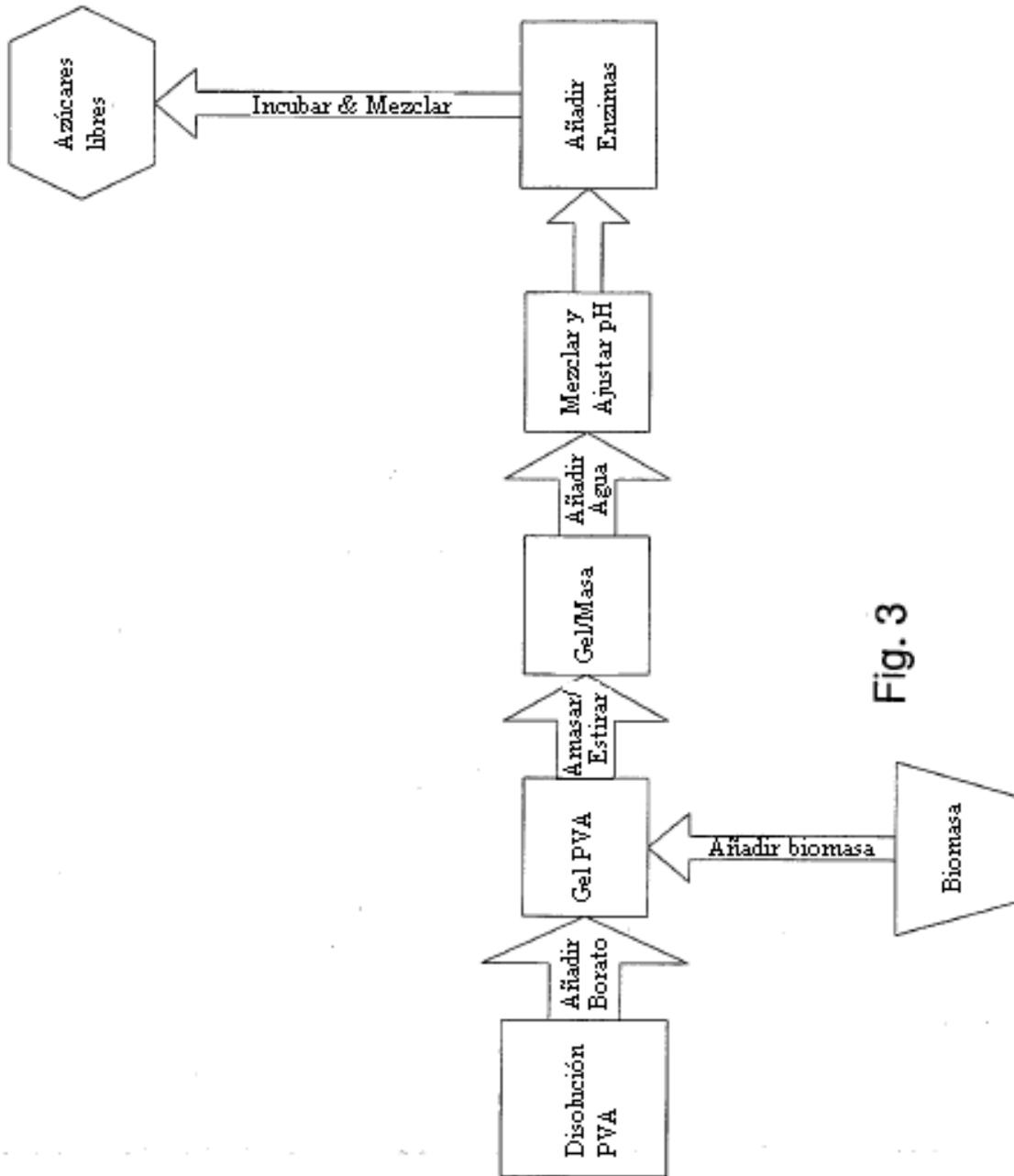


Fig. 3

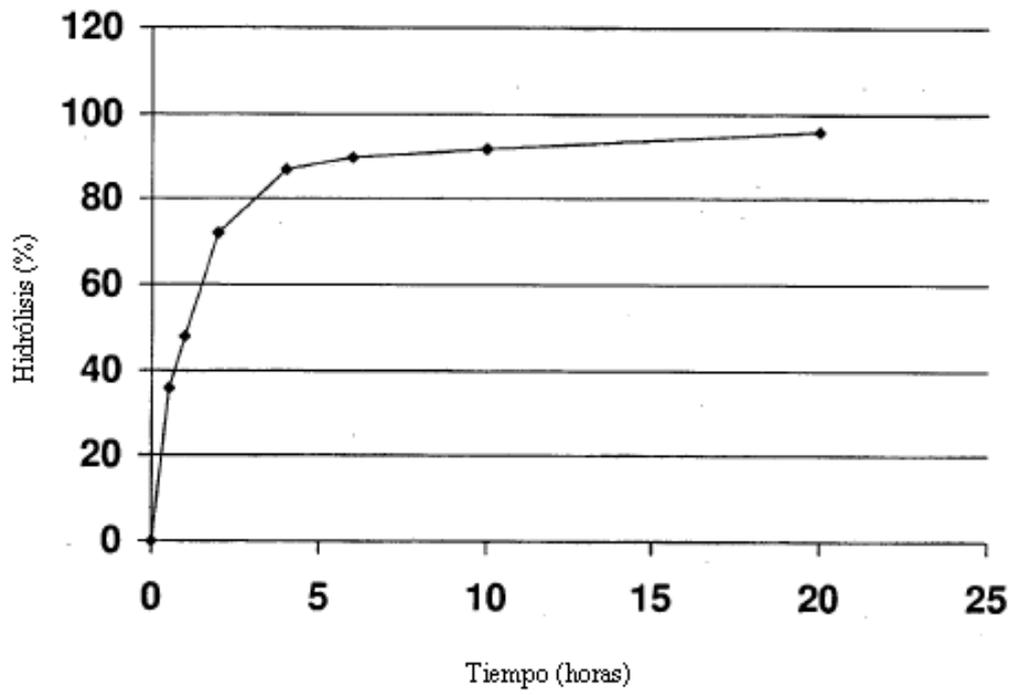


Fig. 4

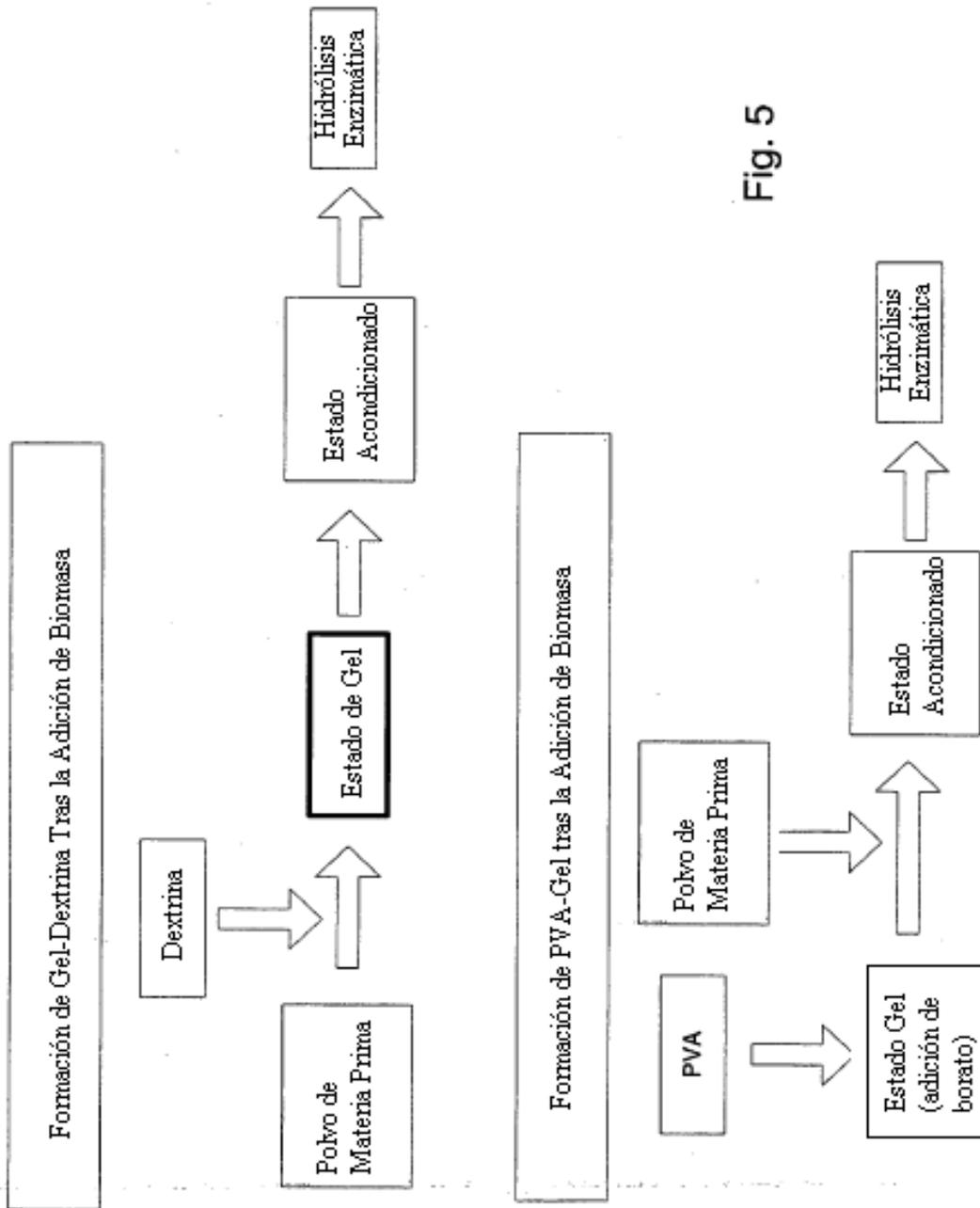


Fig. 5

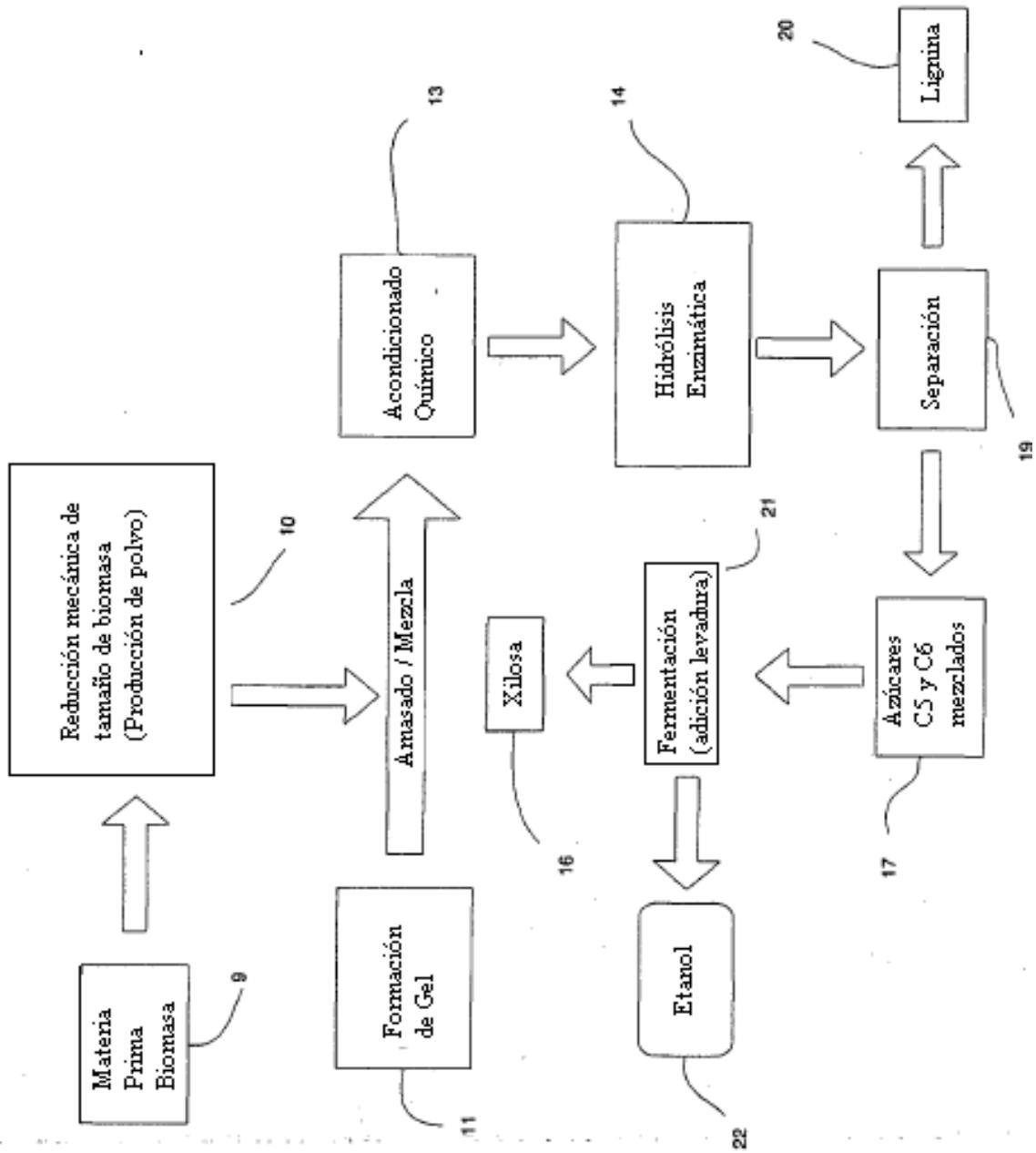


Fig. 6