

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 484 799**

51 Int. Cl.:

C13K 1/02 (2006.01)

C13K 1/04 (2006.01)

C08H 8/00 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2011 E 11785848 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.07.2014 EP 2635712**

54 Título: **Tratamiento de biomasa para producir materiales útiles para biocombustibles**

30 Prioridad:

05.11.2010 US 410689 P

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

12.08.2014

73 Titular/es:

**SHELL INTERNATIONALE RESEARCH
MAATSCHAPPIJ B.V. (100.0%)
Carel Van Bylandtlaan 30
2596 HR The Hague, NL**

72 Inventor/es:

**BLACKBOURN, ROBERT LAWRENCE y
WEIDER, PAUL RICHARD**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 484 799 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

Tratamiento de biomasa para producir materiales útiles para biocombustibles

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a un proceso para tratar biomasa y, más específicamente, a un pretratamiento de biomasa para la producción de azúcares a partir de materiales que contienen polisacáridos, para su uso en biocombustible u otros productos de alto valor.

10

Antecedentes de la invención

La biomasa lignocelulósica se considera un recurso renovable abundante para combustibles y productos químicos debido a la presencia de azúcares en las paredes celulares de las plantas. Más del 50 % del carbono orgánico en la superficie de la tierra está contenido en las plantas. Esta biomasa lignocelulósica está comprendida por hemicelulosa, celulosa y porciones más pequeñas de lignina y proteína. La celulosa es un polímero comprendido en su mayor parte por glucosa polimerizada por condensación y la hemicelulosa es un precursor para los azúcares de pentosa, principalmente xilosa. Estos azúcares pueden convertirse fácilmente en combustible y componentes valiosos, con la condición de que se liberen de las paredes celulares y polímeros que los contienen. Sin embargo, las paredes celulares de las plantas han desarrollado una considerable resistencia a los microbios, degradación mecánica o química para producir los azúcares componentes. Se ha realizado un número de enfoques para superar esta contumacia y la degradación de estos polímeros en azúcares, la sacarificación, tiene una larga historia. Los métodos generales se esbozan esquemáticamente en la Figura 1.

15

20

25

30

35

Los enfoques originales que datan de principios del siglo XIX implican una hidrólisis completa usando ácidos minerales concentrados, tales como ácido clorhídrico, nítrico o sulfúrico. Se han logrado numerosas ventajas para estos procesos, consiguiendo mayores rendimientos de azúcar a partir de la materia prima de biomasa. Estos enfoques con mayor concentración de ácido proporcionan mayores rendimientos de azúcares, pero debido a razones económicas y medioambientales los ácidos deben recuperarse. El principal obstáculo para la práctica de esta forma de sacarificación han sido los desafíos asociados con la recuperación del ácido (M. Galbe y G. Zacchi, A review of the production of ethanol from softwood, Appl. Microbiol. Biotechnol. 59 (2002), pág. 618-628). Se han descrito recientes esfuerzos hacia la separación de ácido sulfúrico y azúcares usando una separación mediante resina de iones, o ácido clorhídrico y azúcares mediante extracción con amina y posterior regeneración térmica del ácido, en la Patente de Estados Unidos N° 5.820.687 y en el documento WO2010026572. Ambos enfoques son complejos y caros.

40

Se han intentado también procesos con ácido diluido para realizar la sacarificación química, y uno de estos ejemplos es el proceso Scholler - Tornesch. Sin embargo, el uso de ácido diluido requiere mayores temperaturas y esto normalmente da como resultado bajos rendimientos de los azúcares deseados debido a la degradación térmica de los monosacáridos. En el pasado se han realizado numerosos enfoques de este tipo, y todos han fallado para satisfacer los obstáculos económicos. Véase Lim Koon Ong, Conversion of lignocellulosic biomass to fuel ethanol- A brief review, The Planter, Vol. 80, N° 941, agosto de 2004 y Cell Wall Saccharification, Ralf Möller, Outputs from the EPOBIO project, 2006; Publicado por CPL Press, Tall Gables, The Sydings, Speen, Newbury, Berks RG14 1RZ, RU.

45

50

55

60

La sacarificación de la celulosa enzimáticamente mantiene la promesa de mayores rendimientos de azúcares en condiciones más moderadas y, por lo tanto, se considera que es mucho más económicamente atractiva. La contumacia de la biomasa en bruto para la hidrólisis enzimática necesita un pretratamiento para potenciar la susceptibilidad de la celulosa a las enzimas hidrolíticas. Se ha desarrollado un número de métodos de pretratamiento tal como se describe en Nathan Mosier, Charles Wyman, Bruce Dale, Richard Elander, Y. Y. Lee, Mark Holtzapple, Michael Ladisch "Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass" Bioresource Technology 96 (2005) pág. 673-686, para alterar la composición estructural y química de la biomasa para mejorar la conversión enzimática. Tales métodos incluyen el tratamiento con explosión de vapor ácido diluido descrito en la Patente de Estados Unidos N° 4.461.648, pretratamiento hidrotérmico sin la adición de productos químicos descrito en el documento WO 2007/009463 A2, explosión por congelación de amoníaco descrita en AFEX; Holtzapple, M. T., Jun, J., Ashok, G., Patibandla, S.L., Dale, B.E., 1991, The ammonia freeze explosion (AFEX) process-a practical lignocellulose pretreatment, Applied Biochemistry and Biotechnology 28/29, pág. 59-74 y la extracción con organosolve descrita en la Patente de Estados Unidos N° 4.409.032. A pesar de esto, el tratamiento se ha citado como el proceso más caro en la conversión de biomasa a combustibles ("Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production" Ind. Eng. Chem. Res., 2009, 48(8), 3713-3729.)

65

Un pretratamiento que se ha explorado exhaustivamente es el proceso con ácido sulfúrico diluido (H₂SO₄) a alta temperatura que hidroliza eficazmente la porción hemicelulósica de la biomasa hacia azúcares solubles y expone la celulosa de manera que la sacarificación enzimática sea exitosa. Los parámetros que pueden emplearse para controlar las condiciones del pretratamiento son tiempo, temperatura y carga de ácido. Estos a menudo se combinan en una ecuación matemática denominada factor de severidad combinado. En general, cuanto mayor sea la carga de

ácido empleada, menor será la temperatura que puede emplearse; esto es a expensas del ácido y su reciclado. A la inversa, cuanto menor es la temperatura, mayor es el tiempo que tarda el proceso de pretratamiento; esto es a expensas de la productividad volumétrica. Es deseable reducir la temperatura porque los azúcares de pentosa se descomponen fácilmente para formar furfurales y otras especies que representan una pérdida de rendimiento, y estos compuestos son venenos para la fermentación aguas abajo. Sin embargo, el uso de mayores concentraciones de ácido requeridas para reducir las temperaturas de pretratamiento por debajo de la cual la formación de furfural resulta fácil (B. P. Lavarack, G. J. Griffin, D. Rodman "The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicelluloses to product xylose, arabinose, glucose and other products." Biomass and Bioenergy 23 (2002) pág. 367-380), una vez más requiere la recuperación del ácido fuerte. Si se emplean corrientes de ácido diluido y mayores temperaturas la reacción de pretratamiento produce mayores cantidades de furfural y el ácido que pasa hacia aguas abajo debe neutralizarse, dando como resultado sales inorgánicas que complican el procesamiento aguas abajo y que requieren sistemas de tratamiento de agua residual más caros.

El documento WO2010/046051 describe un proceso para la producción de lípidos a partir de biomasa incluyendo, al menos, un polisacárido que comprende: someter dicha biomasa a hidrólisis ácida en presencia de una solución acuosa de al menos un ácido orgánico seleccionado entre ácidos alquil- o aril-sulfónicos que tienen de C7 a C20 átomos de carbono, preferentemente de C9 a C15 átomos de carbono, o a partir de ácidos carboxílicos halogenados, a una temperatura que varía de 80 °C a 160 °C, preferentemente de 100 °C a 150 °C, obtener una primera mezcla que comprende una primera fase sólida y una primera fase acuosa; someter dicha primera mezcla a hidrólisis enzimática obteniendo una segunda mezcla que comprende una segunda fase sólida y una segunda fase acuosa; someter dicha segunda fase acuosa a fermentación en la presencia de al menos una levadura oleagínosa obteniendo una biomasa celular oleagínosa que comprende lípidos. Para recuperar los ácidos sulfónicos usados en el documento WO2010/046051 es necesaria extracción, que requiere cantidades significativas de disolventes orgánicos.

Sumario de la invención

Dada la información anterior, es deseable utilizar un ácido fuerte que se invierta fácilmente hacia componentes recuperables y/o reciclables, preferentemente neutros. Tal sistema sería beneficioso tanto para métodos de hidrólisis de ácido concentrado como para pretratamiento de biomasa con ácido diluido.

En una realización la presente invención comprende un método que comprende: (a) proporcionar una biomasa que contiene polisacáridos; y (b) poner en contacto la biomasa con una solución que contiene al menos un ácido α -hidroxisulfónico, hidrolizando de esta manera la biomasa para producir al menos un producto que contiene azúcar fermentable; y (c) opcionalmente, retirar el ácido α -hidroxisulfónico en su forma componente del producto por calentamiento y/o reducción de la presión para producir un producto con ácido retirado que contiene al menos un azúcar fermentable sustancialmente libre del ácido α -hidroxisulfónico.

En otra realización, un método comprende reciclar el ácido α -hidroxisulfónico retirado como componentes para la etapa (b) como componentes o en su forma recombinada.

En otra realización más, un método comprende hidrolizar adicionalmente un producto con ácido retirado.

En otra realización más, un método comprende fermentar una corriente que contiene azúcares producida por los métodos anteriores.

En otra realización más, una composición comprende (a) biomasa que contiene polisacáridos, (b) al menos un ácido α -hidroxisulfónico y (c) agua.

En otra realización más, una composición comprende (a) biomasa que contiene polisacáridos, (b) al menos un ácido α -hidroxisulfónico, (c) agua y (d) al menos un azúcar fermentable.

Las características y ventajas de la invención resultarán evidentes para los expertos en la materia. Aunque los expertos en la materia pueden hacer numerosos cambios, tales cambios están dentro del espíritu de la invención.

Breve descripción del dibujo

Este dibujo ilustra ciertos aspectos de algunas realizaciones de la invención y no debe usarse para limitar o definir la invención.

La Figura 1 ilustra esquemáticamente un diagrama de flujo de bloques de tratamientos de lignocelulosa.

La Figura 2 ilustra esquemáticamente un diagrama de flujo de bloques de una realización de un proceso de tratamiento de biomasa de esta invención.

La Figura 3 ilustra esquemáticamente un diagrama de flujo de bloques de otra realización del proceso de tratamiento de biomasa de la invención.

La Figura 4 muestra la xilosa recuperada con el tiempo en presencia de un 10 % en peso de ácido alfa-hidroxietanosulfónico y un 10,7 % de biomasa en comparación con un ejemplo comparativo con solo biomasa, agua y SO₂.

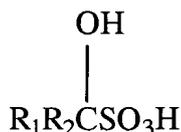
La Figura 5 muestra los gramos de furfural/gramos de xilosa producidos con el tiempo en presencia de ácido α -hidroxisulfónico y un 10 % en peso de bagazo.

La Figura 6 muestra una representación IR tridimensional, que representa los espectros IR individuales con el tiempo a partir del tratamiento de bagazo con un 20 % en peso de ácido α -hidroxietanosulfónico a 100 °C seguido de la inversión del ácido.

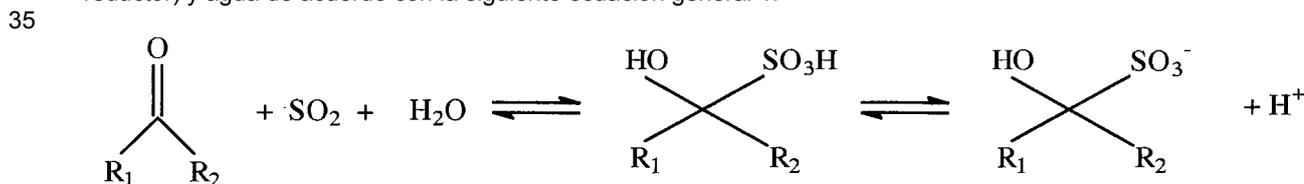
10 **Descripción detallada de la invención**

Se ha descubierto que la presente invención proporciona un método mejorado para el tratamiento con ácido de la biomasa en un proceso para producir azúcares y biocombustibles. El ácido α -hidroxisulfónico es eficaz para el tratamiento de la biomasa hidrolizando la biomasa a azúcares fermentables como pentosa, tal como xilosa, a menor temperatura, por ejemplo, 100 °C para ácido α -hidroximetano sulfónico o ácido α -hidroxietano sulfónico, produciendo poco o nada de furfural en el proceso. Se ha demostrado también que una porción de la celulosa se hidroliza en estas condiciones comparativamente moderadas. Se ha descubierto que otros polisacáridos, tales como almidón, también se hidrolizan fácilmente a los azúcares componentes mediante ácidos α -hidroxisulfónicos. Adicionalmente, el ácido α -hidroxisulfónico es reversible para materiales fácilmente removibles y reciclables, a diferencia de los ácidos minerales tales como ácido sulfúrico, fosfórico o clorhídrico. Las menores temperaturas y presiones empleadas en el tratamiento de la biomasa conducen a un menor coste del equipo. La biomasa pretratada de esta manera ha demostrado ser altamente susceptible a una sacarificación adicional, especialmente sacarificación mediada por enzimas.

25 Pueden usarse ácidos alfa-hidroxisulfónicos de fórmula general



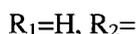
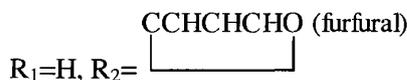
30 donde R₁ y R₂ son individualmente hidrógeno o hidrocarbilo con hasta 9 átomos de carbono que pueden contener o no oxígeno, en el tratamiento de la presente invención. El ácido alfa-hidroxisulfónico puede ser una mezcla de los ácidos mencionados anteriormente. El ácido puede prepararse, en general, haciendo reaccionar al menos un compuesto de carbonilo precursor del compuesto de carbonilo (por ejemplo, trioxano y paraformaldehído) con dióxido de azufre o un precursor de dióxido de azufre (por ejemplo, azufre y oxidante, o trióxido de azufre y agente reductor) y agua de acuerdo con la siguiente ecuación general 1.

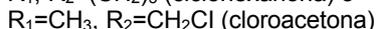
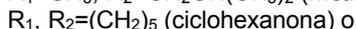
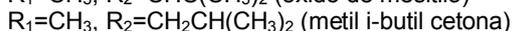
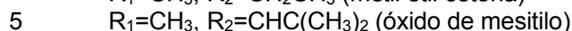
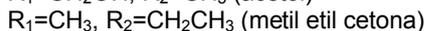
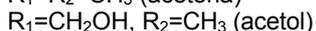
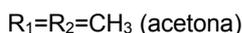
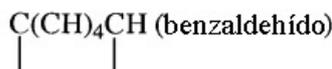
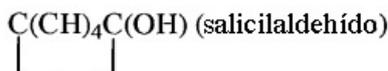


40 donde R₁ y R₂ son individualmente hidrógeno o hidrocarbilo con hasta 9 átomos de carbono o una mezcla de los mismos.

Los ejemplos ilustrativos de compuestos de carbonilo útiles para preparar los ácidos alfa-hidroxisulfónicos usados en esta invención son los siguientes

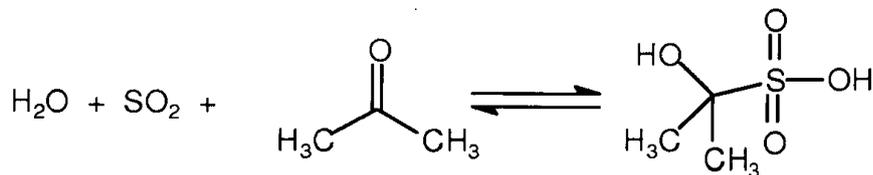
- R₁=R₂=H (formaldehído)
- R₁=H, R₂=CH₃ (acetaldehído)
- R₁=H, R₂=CH₂CH₃ (propionaldehído)
- R₁=H, R₂=CH₂CH₂CH₃ (n-butiraldehído)
- R₁=H, R₂=CH(CH₃)₂ (i-butiraldehído)
- R₁=H, R₂=CH₂OH (glicolaldehído)
- R₁=H, R₂=CHOHCH₂OH (gliceraldehído)
- R₁=H, R₂=C(=O)H (glioxal)





Los compuestos de carbonilo y sus precursores pueden ser una mezcla de compuestos descrita anteriormente. Por ejemplo la mezcla puede ser un compuesto de carbonilo o un precursor, tal como por ejemplo trioxano, que se sabe que se invierte térmicamente a formaldehído a temperaturas elevadas, o un alcohol que puede convertirse al aldehído por deshidrogenación del alcohol a un aldehído o por método conocidos. Se describe a continuación un ejemplo de tal conversión a aldehído a partir de alcohol. Un ejemplo de una fuente de compuestos carbonilo puede ser una mezcla de hidroxiacetaldehído y otros aldehídos y cetonas producidos a partir de un aceite de pirólisis rápida, tal como se describe en "Fast Pyrolysis and Bio-oil Upgrading, Biomass-to-Diesel Workshop", Pacific Northwest National Laboratory, Richland, Washington, 5-6 de septiembre de 2006. Los compuestos de carbonilo y sus precursores pueden ser también una mezcla de cetonas y/o aldehídos con o sin alcoholes que pueden convertirse en cetonas y/o aldehídos, preferentemente en el intervalo de 1 a 7 átomos de carbono.

La preparación de ácidos α -hidroxisulfónicos mediante la combinación de compuestos de carbonilo orgánicos, SO_2 y agua es una reacción general, y se ilustra en la ecuación 2 para acetona.



Los ácidos α -hidroxisulfónicos parecen ser tan fuertes como, si es que no son más fuertes que, el HCl puesto que se ha informado que una solución acuosa del aducto reacciona con NaCl liberando el ácido débil, HCl (véase el documento US 3.549.319). La reacción en la ecuación 1 es un equilibrio verdadero, que da como resultado la fácil reversibilidad del ácido. Es decir, cuando se calienta, el equilibrio se desplaza hacia el carbonilo de partida, dióxido de azufre y agua (forma de componente) si se permite que los componentes volátiles (por ejemplo, dióxido de azufre) se alejen la mezcla de reacción por vaporización u otros métodos, la reacción del ácido se invierte completamente y la solución se hace eficazmente neutra. De esta manera, aumentando la temperatura y/o reduciendo la presión, el dióxido de azufre puede expulsarse y la reacción se invierte completamente debido al principio de Le Châtelier, dependiendo el destino del compuesto de carbonilo de la naturaleza del material empleado. Si el carbonilo también es volátil (por ejemplo, acetaldehído), este material también se retira fácilmente en la fase vapor. Los compuestos de carbonilo tales como benzaldehído, que son pocos solubles en agua, pueden formar una segunda fase orgánica y separarse por medios mecánicos. De esta manera, el carbonilo puede retirarse por medios convencionales, por ejemplo, aplicación continuada de calor y/o vacío, vapor y separación de nitrógeno, lavado con disolvente, centrifugación, etc. Por lo tanto, la formación de estos ácidos es reversible en tanto que, a medida que se eleva la temperatura, el dióxido de azufre y/o el aldehído y/o la acetona pueden evaporarse instantáneamente de la mezcla y condensarse o absorberse en cualquier parte para reciclarlos. Se ha descubierto que estos ácidos reversibles, que son aproximadamente tan fuertes como los ácidos minerales fuertes, son eficaces en las reacciones de tratamiento de biomasa. Se ha descubierto que estas reacciones de tratamiento producen muy pocos de los subproductos no deseados, furfural, producidos por otros ácidos minerales convencionales. Adicionalmente, puesto que los ácidos se retiran eficazmente de la mezcla de reacción después del tratamiento, se evita sustancialmente la neutralización con base y la formación de sales para complicar el procesamiento aguas abajo. La capacidad para invertir y reciclar estos ácidos también permite el uso de mayores concentraciones que, de lo contrario, serían económica o medioambientalmente prácticas. Como resultado directo la temperatura empleada en el tratamiento de la biomasa puede reducirse para disminuir la formación de subproductos tales como furfural o hidroximetilfurfural.

Se ha descubierto que la posición del equilibrio dado en la ecuación 1 a cualquier temperatura y presión dadas está altamente influida por la naturaleza del compuesto de carbonilo empleado, y por efectos estéricos y electrónicos que tienen una fuerte influencia sobre la estabilidad térmica del ácido. El mayor volumen estérico alrededor del carbonilo tiende a favorecer la menor estabilidad térmica de la forma ácida. De esta manera, puede ajustarse la potencia del ácido y la temperatura de fácil descomposición mediante la selección del compuesto de carbonilo apropiado.

En una realización, el material de partida de acetaldehído para producir los ácidos alfa-hidroxisulfónicos puede proporcionarse convirtiendo el etanol producido a partir de la fermentación de la biomasa del proceso de la invención en acetaldehído por deshidrogenación u oxidación. La deshidrogenación puede realizarse típicamente en presencia de catalizadores de cobre activados con cinc, cobalto o cromo. A temperaturas de reacción de 260-290 °C, la conversión de etanol por cada pasada es del 30-50 % y la selectividad a acetaldehído es entre el 90 y el 95 % en moles. Los subproductos incluyen crotonaldehído, acetato de etilo y alcoholes superiores. El acetaldehído y el etanol no convertidos se separan del gas rico en hidrógeno agotado por lavado con etanol y agua. El acetaldehído puro se recupera por destilación, y se usa una columna adicional para separar el etanol para reciclarlo de los productos de mayor punto de ebullición. Puede que no sea necesario suministrar aldehído puro al proceso con ácido α -hidroxisulfónico anterior y la corriente en bruto puede ser suficiente. El gas de escape rico en hidrógeno es adecuado para las reacciones de hidrogenación o puede usarse como combustible para suministrar algo del calor endotérmico a la reacción de deshidrogenación de etanol. El catalizador basado en cobre tiene una vida de varios años pero requiere regeneración periódica. En un proceso de oxigenación, el etanol puede convertirse en acetaldehído en presencia de aire u oxígeno y usando un catalizador de plata en forma de tela metálica o cristales a granel. Típicamente, la reacción se realiza a temperaturas entre 500 y 600 °C dependiendo de la relación de etanol a aire. Parte del acetaldehído se forma también por deshidrogenación, con combustión adicional del hidrógeno para producir agua. A una temperatura de reacción dada, el calor endotérmico de la deshidrogenación desvía parcialmente el calor exotérmico de oxidación. La conversión de etanol por pasada típicamente es entre el 50 y el 70 %, y la selectividad hacia acetaldehído está en el intervalo del 95 al 97 % en moles. Los subproductos incluyen ácido acético, CO y CO₂. Las etapas de separación son similares a aquellas en el proceso de deshidrogenación excepto que el vapor se genera por recuperación de calor de la corriente de efluente del reactor. El vapor del gas de escape consiste en nitrógeno que contiene algo de metano, hidrógeno, monóxido de carbono y dióxido de carbono; puede usarse como combustible pobre con bajo valor calorífico. Un método alternativo para producir acetaldehído es mediante oxidación de etanol con aire en presencia de un catalizador de Fe-Mo. La reacción puede realizarse a 180-240 °C y presión atmosférica usando un reactor multitubular. De acuerdo con los ejemplos de patente, pueden obtenerse selectividades hacia acetaldehído entre 95 y 99 % en moles, con niveles de conversión de etanol por encima del 80 %.

Como se usa en este documento, el término "biomasa" significa materiales orgánicos producidos por las plantas (por ejemplo, hojas, raíces, semillas y tallos). Las fuentes comunes de biomasa incluyen: residuos agrícolas (por ejemplo, tallos de maíz, trigo, cascarillas de semillas, hojas de caña de azúcar, bagazo, cáscaras de nueces y estiércol de ganado, pollos y cerdos); materiales de madera (por ejemplo, madera o corcho, serrín, tala de madera y residuos de laminadora); residuos municipales (por ejemplo, papel residual y recortes de césped); y cultivos energéticos (por ejemplo, álamos, sauces, pasto, alfalfa, trébol púrpura de la pradera, maíz, semilla de soja, algas y algas marinas). El término "biomasa" se refiere también a los bloques de construcción primarios de todos los anteriores, incluyendo aunque sin limitación, sacáridos, lignina, celulosa, hemicelulosas y almidones. El término "polisacáridos" se refiere a estructuras de carbohidrato poliméricas de unidades de repetición (ya sean mono o disacáridos) unidos juntos por enlaces glucosídicos. Estas estructuras son a menudo lineales pero pueden contener diversos grados de ramificación. Los ejemplos incluyen polisacáridos de almacenamiento tales como almidón y glucógeno y polisacáridos estructurales tales como celulosa y quitina. La biomasa se procesa típicamente a un tamaño de partícula adecuado que puede incluir molienda. Sin pretender restringir el alcance de la invención, se ha descubierto típicamente que es más fácil procesar partículas más pequeñas de biomasa. La biomasa que tiene su tamaño reducido para facilitar la manipulación (por ejemplo, menor de 1,3 cm) son materiales particularmente susceptibles.

En algunas realizaciones, las reacciones descritas a continuación se realizan en cualquier sistema de diseño adecuado, incluyendo sistemas que comprenden flujo continuo (tales como reactores CSTR y de flujo pistón), recipientes y reactores de sistema discontinuo, semicontinuo o multisistemas, y de lecho de relleno y de flujo a través. Por razones estrictamente de viabilidad económica, es preferible que la invención se realice de forma práctica usando un sistema de flujo continuo a un equilibrio estacionario. En una ventaja del proceso en contraste con las reacciones de pretratamiento con ácidos diluidos, donde el ácido residual se deja en la mezcla de reacción (< 1 % en peso de ácido sulfúrico), las menores temperaturas empleadas usando estos ácidos (del 10 al 20 % en peso) dan como resultado presiones sustancialmente menores en el reactor, dando como resultado sistemas de procesamiento potencialmente menos caros tales como reactores revestidos de plástico, reactores de acero inoxidable doble y reactores de tipo 2205.

La Figura 2 muestra una realización de la presente invención para convertir biomasa en azúcares. En esta realización, una materia prima de biomasa 112 se introduce en una reacción de hidrólisis 114 junto con una corriente de reciclado 118. La reacción de hidrólisis 114 puede comprender un número de componentes incluyendo ácido α -hidroxisulfónico generado *in situ*. El término "*in situ*", como se usa en este documento, se refiere a un componente que se produce dentro del proceso global; no está limitado a un reactor particular para producción o uso y, por lo

tanto, es sinónimo de un componente generado en el proceso. La corriente de producto reaccionado 116 a partir de 114 se introduce al sistema de retirada de ácido 120, donde el ácido se retira en su forma componente y después se recupera 122 (y opcionalmente se lava 124) y se recicla a través de la corriente de reciclado 118 a 114 y se produce la corriente de producto 126 que contiene al menos un azúcar fermentable (por ejemplo, pentosa y opcionalmente hexosa) sustancialmente libre de los ácidos alfa-hidroxisulfónicos para procesamiento adicional. El ácido retirado como componente se recicla a 114 como componentes y/o en su forma recombinada.

La Figura 3 muestra una realización de la presente invención para convertir la biomasa en azúcares. En esta realización, una materia prima de biomasa 112 se introduce a una reacción de hidrólisis 114 junto con una corriente de reciclado 118. La reacción de hidrólisis 114 puede comprender un número de componentes incluyendo ácido α -hidroxisulfónico generado *in situ*. La corriente de producto reaccionado 116 a partir de 114 se introduce en un sistema de retirada de ácido 120 donde el ácido se retira en su forma componente y después se recupera 122 (y opcionalmente se lava 124) y se recicla mediante una corriente de reciclado 118 a 114 y una corriente de producto 126 que contiene al menos un azúcar fermentable (por ejemplo, pentosa y opcionalmente hexosa) sin que se produzcan ácidos alfa-hidroxisulfónicos. El ácido retirado como componentes se recicla a 114 como componentes y/o en su forma recombinada. La corriente de producto 126 se filtra en 200 para producir una corriente líquida 210 que contiene azúcar fermentable (por ejemplo, pentosa y opcionalmente hexosa) y una corriente sólida húmeda 220 que contiene celulosa y lignina.

Hay diversos factores que afectan a la conversión de la materia prima de biomasa en la reacción de hidrólisis. Debería añadirse un compuesto de carbonilo o un compuesto de carbonilo incipiente (tal como trioxano) con dióxido de azufre y agua en una cantidad y en condiciones eficaces para formar ácidos alfa-hidroxisulfónicos. La temperatura y presión de la reacción de hidrólisis debería estar en el intervalo para formar ácidos alfa-hidroxisulfónicos y para hidrolizar biomasa en azúcares fermentables. La cantidad de compuesto de carbonilo o su precursor y dióxido de azufre debería ser tal que produzca ácidos alfa-hidroxisulfónicos en el intervalo del 1 % en peso, preferentemente del 5 % en peso, más preferentemente del 10 % en peso al 55 % en peso, preferentemente del 50 % en peso, más preferentemente del 40 % en peso basado en la solución total. Para la reacción, el exceso de dióxido de azufre no es necesario, pero puede usarse cualquier exceso de dióxido de azufre para dirigir el equilibrio en la ec. 1 para favorecer la forma ácida a temperaturas elevadas. Las condiciones de contacto de la reacción de hidrólisis pueden realizarse a temperaturas preferentemente de al menos 50 °C, dependiendo del ácido alfa-hidroxisulfónico usado, aunque tal temperatura puede ser tan baja como la temperatura ambiente, dependiendo del ácido y la presión usados. La condición de contacto de la reacción de hidrólisis puede variar preferentemente hasta e incluyendo 150 °C, dependiendo del ácido alfa-hidroxisulfónico usado. En una condición más preferida, la temperatura es de al menos 80 °C, más preferentemente al menos 100 °C. En una condición más preferida, el intervalo de temperatura es hasta e incluyendo de 90 °C a 120 °C. La reacción se realiza preferentemente a una presión tan baja como sea posible, dado el requisito de contener el exceso de dióxido de azufre. La reacción puede realizarse también a una presión tan baja como 1 barg, preferentemente 4 barg, a una presión tan alta como hasta 10 barg. La temperatura y la presión que se utilizarán óptimamente dependerán del ácido alfa-hidroxisulfónico particular elegido y se optimizarán basándose en consideraciones económicas de la metalurgia y los recipientes de contención utilizados en la práctica por los expertos en la materia.

La cantidad de solución ácida para biomasa "de peso seco" determina la concentración final de azúcar fermentable obtenido. De esta manera, es deseable una concentración de biomasa tan alta como sea posible. Esto se equilibra por la naturaleza absorbente de la biomasa, resultando la mezcla, transporte y transferencia de calor cada vez más difícil a medida que aumenta la cantidad relativa de sólidos a líquidos en la biomasa. Los expertos en la materia han utilizado numerosos métodos para salvar estos obstáculos para la mezcla, transporte y transferencia de calor. De esta manera, el porcentaje en peso de sólidos a líquidos totales en la biomasa (consistencia) puede ser tan bajo como el 1 % o tan alto como el 33 %, dependiendo del aparato elegido y de la naturaleza de la biomasa.

La temperatura de la reacción de hidrólisis puede elegirse de manera que se hidrolice la cantidad máxima de carbohidratos extraíbles y se extraigan como azúcar fermentable (más preferentemente pentosa y/o hexosa) a partir de la materia prima de biomasa mientras se limita la formación de los productos de degradación.

En algunas realizaciones, puede usarse una pluralidad de recipientes de reactor para realizar la reacción de hidrólisis. Estos recipientes pueden tener cualquier diseño capaz de realizar una reacción de hidrólisis. Los diseños de recipiente de reactor adecuados pueden incluir, aunque sin limitación, reactores discontinuos, de lecho percolador, de corrientes paralelas, en contra-corriente, de tanque agitado o de lecho fluidizado. Puede emplearse el escalonado de reactores para llegar a la solución más económica. Los sólidos de la materia prima de biomasa restantes después pueden opcionalmente separarse de la corriente líquida para permitir un procesamiento más severo de los sólidos recalcitrantes o pasar directamente dentro de la corriente líquida para procesamiento adicional, que puede incluir hidrólisis enzimática, fermentación, extracción, destilación y/o hidrogenación. En otra realización, puede usarse una serie de recipientes de reactor con un perfil de temperatura en aumento, de manera que se extrae una fracción de azúcar deseada en cada recipiente. Después, la salida de cada recipiente puede enfriarse antes de combinar las corrientes, o las corrientes pueden alimentarse individualmente a la siguiente reacción para su conversión.

Los diseños de reactor adecuados pueden incluir, aunque sin limitación, un reactor retromezclado (por ejemplo, un tanque agitado, una columna de burbujas y/o un reactor de mezcla por chorro), que pueden emplearse si la viscosidad y características de la materia prima de la biomasa parcialmente digerida y el medio de reacción líquido son suficientes para funcionar en un régimen donde los sólidos de la materia prima de base biológica están suspendidos en una fase líquida en exceso (en oposición a un digestor de pilas apiladas). También es concebible que pueda emplearse un reactor de lecho percolador con la biomasa presente como la fase estacionaria y una solución de ácido α -hidroxisulfónico pasando sobre el material.

El producto de la reacción de tratamiento contiene azúcar fermentable o monosacáridos, tal como pentosa y/o hexosa, que es adecuado para un procesamiento adicional. El ácido alfa-hidroxisulfónico residual puede retirarse por aplicación de calor y/o vacío de la corriente de producto que contiene el azúcar fermentable para invertir la formación de ácido alfa-hidroxisulfónico a su material de partida para producir una corriente que contiene azúcar fermentable sustancialmente libre del ácido α -hidroxisulfónico. En particular, la corriente de producto está sustancialmente libre de ácido alfa-hidroxisulfónico, lo que significa que no más del 2 % en peso está presente en una corriente de producto, preferentemente no más del 1 % en peso, más preferentemente no más del 0,2 % en peso, lo más preferentemente no más del 0,1 % en peso está presente en la corriente de producto. La temperatura y presión dependerán del ácido alfa-hidroxisulfónico particular usado y de la minimización de las temperaturas empleadas deseables para conservar los azúcares que se obtienen en las reacciones de tratamiento. Típicamente, la retirada puede realizarse a temperaturas en el intervalo de 50 °C, preferentemente de 80 °C, más preferentemente de 90 °C a 110 °C, hasta 150 °C. La presión puede estar en el intervalo de 0,5 barg a 2 barg, más preferentemente de 0,1 barg a 1 barg. Un experto en la materia puede apreciar que la reacción de tratamiento 114 y la retirada de ácido pueden ocurrir en el mismo recipiente o un recipiente diferente en un número de tipos de recipientes diferentes dependiendo de la configuración del reactor y por escalonado, siempre y cuando el sistema esté diseñado de manera que la reacción se realice en una condición favorable para la formación y mantenimiento del ácido alfa-hidroxisulfónico y una retirada favorable para la reacción inversa (como componentes). Como un ejemplo, la reacción en el recipiente del reactor 114 puede funcionar aproximadamente a 100 °C y a una presión de 4 barg en presencia de ácido alfa-hidroxietanosulfónico y el recipiente de retirada 120 puede funcionar a aproximadamente 110 °C y a una presión de 0,5 barg. Se contempla adicionalmente que la inversión puede verse favorecida por la destilación reactiva del ácido alfa-hidroxisulfónico formado. En el reciclado del ácido retirado, pueden añadirse opcionalmente compuestos de carbonilo adicionales, SO₂ y agua según sea necesario. El material de partida retirado y/o el ácido alfa-hidroxisulfónico pueden condensarse y/o lavarse por contacto con agua y reciclarse a la reacción 114.

De esta manera, una mezcla de reacción típica contiene (a) una biomasa que contiene polisacáridos, (b) al menos un ácido α -hidroxisulfónico, y (c) agua. Una vez que parte de la biomasa se ha hidrolizado, la mezcla de reacción contiene (a) una biomasa que contiene polisacáridos, (b) al menos un ácido α -hidroxisulfónico, (c) agua y (d) al menos un azúcar fermentable.

En una realización, la corriente de producto que contiene celulosa puede hidrolizarse adicionalmente por otros métodos, por ejemplo, mediante enzimas para hidrolizar adicionalmente la biomasa a productos de azúcar que contienen pentosa y hexosa (por ejemplo, glucosa) y fermentarse para producir alcoholes, tal como se desvela en la Publicación de Estados Unidos N° 2009/0061490 y en la Patente de Estados Unidos N° 7.781.191.

En otra realización más, el azúcar fermentable puede convertirse en furfural o hidroximetilfurfural (HMF) o fermentarse adicionalmente a alcoholes. Aunque en algunas realizaciones puede ser deseable minimizar la formación de furfurales, si se desea la formación de furfurales, la solución que contiene ácido de la etapa (b) puede calentarse adicionalmente a una temperatura en el intervalo de 110 a 160 °C, más preferentemente en el intervalo de 120 a 150 °C para formar al menos una corriente de producto que contiene furfural. En una realización, la temperatura de la etapa (b) se mantiene a una temperatura de 100 °C o menor si esto es deseable para obtener una cantidad mínima de furfural en la corriente de producto.

En otra realización más, los azúcares fermentables pueden convertirse en hidrocarburos superiores como un componente de biocombustible que usa técnicas de hidrogenación y condensación en lugar de hidrólisis adicional mediante enzimas y fermentación. Típicamente, el producto que contiene azúcar fermentable se pone en contacto con hidrógeno en presencia de un catalizador de hidrogenólisis para formar una pluralidad de intermedios oxigenados, y después se procesan adicionalmente los intermedios oxigenados para producir una combinación de combustible en una o más reacciones de procesamiento. En una realización, puede usarse una reacción de condensación junto con otras reacciones para generar una combinación de combustible y puede catalizarse mediante un catalizador que comprende sitios funcionales ácidos o básicos, o tanto un producto como un combustible líquido. Como se usa en este documento, el término "hidrocarburos superiores" se refiere a hidrocarburos que tienen una relación de oxígeno a carbono menor que la de al menos un componente de la materia prima de biomasa. Como se usa en este documento, el término "hidrocarburo" se refiere a un compuesto orgánico que comprende fundamentalmente hidrógeno y átomos de carbono, que también es un hidrocarburo no sustituido. En ciertas realizaciones, los hidrocarburos de la invención comprenden también heteroátomos (por ejemplo, oxígeno o azufre) y, de esta manera, el término "hidrocarburo" puede incluir también hidrocarburos sustituidos.

En un ejemplo de este tipo, la corriente de producto que contiene azúcar fermentable puede procesarse adicionalmente para producir mezclas de compuestos C₄+ útiles para biocombustibles, tal como se describe en la Publicación de Estados Unidos N° US2011/0154721 y la Solicitud de Patente de Estados Unidos con N° de Serie 13/106509 presentada el 12 de mayo de 2011. Como otro ejemplo de este tipo, la corriente de producto que contiene

5 azúcar fermentable puede procesarse adicionalmente para producir mezclas de compuestos C₄+ útiles para biocombustibles tal como se describe en la Publicación de Estados Unidos N° 20080216391. La alimentación sólida puede ser adecuada también para su uso en reacciones de pirólisis rápida que conducen a combustibles y productos químicos.

10 El término "azúcar fermentable" se refiere a oligosacáridos y monosacáridos que pueden usarse como una fuente de carbono (por ejemplo, pentosas y hexosas) mediante un microorganismo en un proceso de fermentación. Se contempla que el azúcar fermentable puede fermentarse como se ha descrito anteriormente, pero también puede procesarse por otros métodos sin fermentación para producir combustibles como se ha descrito anteriormente. El

15 término "pentosa" se refiere a monosacáridos con cinco átomos de carbono. El término "hexosa" se refiere a monosacáridos con seis átomos de carbono.

En un proceso de fermentación por hidrólisis enzimática el pH de la materia prima pretratada para la hidrólisis enzimática típicamente se ajusta de manera que está dentro de intervalo que es óptimo para las enzimas celulasas usadas. En general, el pH de la materia prima tratada se ajusta dentro de un intervalo de 3,0 a 7,0 o cualquier pH

20 entre medias.

La temperatura de la materia prima tratada se ajusta de manera que esté dentro del intervalo óptimo para la actividad de las enzimas celulasas. En general, una temperatura de 15 °C a 100 °C, de 20 °C a 85 °C, de 30 ° a 70 °C preferentemente o cualquier temperaturas entre ellas es adecuada para la mayor parte de enzimas celulasas.

25 Las enzimas celulasas y la enzima β-glucosidasa se añaden a la materia prima pretratada antes de, durante o después del ajuste de la temperatura y el pH de la suspensión acuosa después del pretratamiento. Preferentemente, las enzimas celulasas y la enzima β-glucosidasa se añaden a la materia prima lignocelulósica pretratada después del ajuste de la temperatura y el pH de la suspensión.

30 Mediante el término "enzimas celulasas" o "celulasas", se entiende una mezcla de enzimas que hidrolizan la celulosa. La mezcla puede incluir celobiohidrolasas (CBH), glucobiohidrolasas (GBH), endoglucanasas (EG) y β-glucosidasa. Por el término "β-glucosidasa" se entiende cualquier enzima que hidrolice el dímero de glucosa, celobiosa, a glucosa. En un ejemplo no limitante, una mezcla de celulasa puede incluir EG, CBH, y enzimas β-glucosidasa.

35 La hidrólisis enzimática puede realizarse también en presencia de una o más enzimas xilanasa. Los ejemplos de enzimas xilanasa que pueden usarse para este fin incluyen, por ejemplo, xilanasa 1, 2 (Xyn1 y Xyn2) y β-xilosidasa, que típicamente están presentes en mezclas de celulasa.

40 El proceso puede realizarse con cualquier tipo de enzimas celulasas, independientemente de su fuente. Los ejemplos no limitantes de celulasas que pueden usarse incluyen aquellas obtenidas a partir de hongos de los géneros *Aspergillus*, *Humicola*, y *Trichoderma*, *Myceliophthora*, *Chrysosporium* y a partir de bacterias de los géneros *Bacillus*, *Thermobifida* y *Thermotoga*. En algunas realizaciones, la célula huésped fúngica filamentosa es la célula *Acremonium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bjerkandera*, *Ceriporiopsis*, *Chrysosporium*, *Coprinus*, *Coriolus*, *Cryptococcus*, *Filibasidium*, *Fusarium*, *Humicola*, *Magnaporthe*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Neocallimastix*, *Neurospora*,

45 *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phanerochaete*, *Phlebia*, *Piromyces*, *Pleurotus*, *Schizophyllum*, *Talaromyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolypocladium*, *Trametes* o *Trichoderma*.

La dosificación de enzima celulasa se elige para convertir la celulosa de la materia prima pretratada a glucosa. Por

50 ejemplo, una dosificación de celulasa apropiada puede ser de 0,1 a 40,0 Unidades de Papel de Filtro (FPU o IU) por gramo de celulosa, o cualquier cantidad entre estas. El término Unidades de Papel de Filtro se refiere a la cantidad de enzima requerida para liberar 2 mg de azúcar reductor (por ejemplo, glucosa) a partir de una pieza de 50 mg de papel de filtro Whatman N° 1 en 1 hora a 50 °C a un pH de aproximadamente 4,8.

55 En la práctica, la hidrólisis puede realizarse en un sistema de hidrólisis, que puede incluir una serie de reactores de hidrólisis. El número de reactores de hidrólisis en el sistema depende del coste de los reactores, el volumen de la suspensión acuosa y otros factores. La hidrólisis enzimática con enzimas celulasa produce una corriente acuosa de azúcar (hidrolizado) que comprende glucosa, celulosa no convertida, lignina y otros componentes de azúcar. La hidrólisis puede realizarse en dos fases (véase la Patente de Estados Unidos N° 5.536.325) o puede realizarse en

60 una sola fase.

En el sistema de fermentación, la corriente acuosa de azúcar se fermenta después por uno o más microorganismos de fermentación para producir un caldo de fermentación que comprende el producto de fermentación de alcohol útil como biocombustibles. En el sistema de fermentación, puede usarse uno cualquiera de un número de

65 microorganismos conocidos (por ejemplo, levaduras o bacterias), para convertir el azúcar en etanol u otros

productos de fermentación de alcohol. Los microorganismos convierten los azúcares incluyendo, aunque sin limitación, glucosa, manosa y galactosa presentes en la solución de azúcar clarificada, en un producto de fermentación.

5 Pueden usarse muchos microorganismos conocidos en el presente proceso para producir el alcohol deseado para su uso en biocombustibles. *Clostridia*, *Escherichia coli* (E. coli) y cepas recombinantes de E. coli, cepas modificadas genéticamente de *Zymomonas mobilis* tales como las descritas en los documentos US2003/0162271, 60/847.813 y 60/847.856 son algunos ejemplos de tales bacterias. Los microorganismos pueden ser adicionalmente una levadura o un hongo filamentoso del género *Saccharomyces*, *Kiuyveromyces*, *Candida*, *Pichia*, *Schizosaccharomyces*,
10 *Hansenula*, *Kioeckera*, *Schwanniomyces*, *Yarrowia*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Humicola*, *Acremonium*, *Fusarium*, y *Penicillium*. La fermentación puede realizarse también con una levadura recombinante modificada genéticamente para fermentar azúcares tanto hexosa como pentosa a etanol. Las levaduras recombinantes que pueden fermentar uno o ambos de los azúcares pentosa, xilosa y arabinosa a etanol se describen en la Patente de Estados Unidos N° 5.789.210, la Patente de Estados Unidos N° 6.475.768, la Patente Europea EP 1.727.890, la Patente Europea EPI 863.901 y el documento WO 2006/096130. La utilización de xilosa puede estar mediada por la ruta de xilosa reductasa/xilitol deshidrogenasa (por ejemplo, los documentos WO9742307 A1 19971113 y WO9513362 A1 19950518) o la ruta de xilosa isomerasa (por ejemplo, los documentos WO2007028811 o WO2009109631). También se contempla que el organismo de fermentación puede producir también alcoholes grasos, por ejemplo, como se describe en los documentos WO 2008/119082 y PCT/US07/011923. En otra realización, la fermentación puede realizarse mediante una levadura capaz de fermentar predominantemente azúcares C6, por ejemplo usando cepas disponibles en el mercado tales como *Thermosacc* y *Superstart*.

Preferentemente, la fermentación se realiza a o cerca de la temperatura y pH óptimos del microorganismo de fermentación. Por ejemplo, la temperatura puede ser de 25 °C a 55 °C o cualquier cantidad entre estas. La dosis del microorganismo de fermentación dependerá de otros factores, tales como la actividad del microorganismo de fermentación, el tiempo de fermentación deseado, el volumen del reactor y otros parámetros. Se apreciará que estos parámetros pueden ajustarse según se desee por un experto en la materia para conseguir las condiciones de fermentación óptimas.

30 La fermentación puede realizarse en modo discontinuo, continuo o de alimentación discontinua, con o sin agitación. El sistema de fermentación puede emplear una serie de reactores de fermentación.

En alguna realización, el sistema de hidrólisis y el sistema de fermentación pueden realizarse en el mismo recipiente. En una realización, la hidrólisis puede completarse parcialmente y la corriente hidrolizada parcialmente puede fermentarse. En una realización, se realiza un proceso de sacarificación y fermentación simultánea (SSF), donde el sistema de hidrólisis puede funcionar hasta que se satisface el porcentaje final de sólidos diana, y después la biomasa hidrolizada puede transferirse a un sistema de fermentación.

40 El sistema de fermentación produce una corriente de alcohol que preferentemente contiene al menos un alcohol que tiene de 2 a 18 átomos de carbono. En el sistema de recuperación, cuando el producto que se va a recuperar en la corriente de alcohol es un alcohol destilable tal como etanol, el alcohol puede recuperarse por destilación de una manera conocida para separar tal alcohol de una corriente acuosa. Si el producto que se va a recuperar en la corriente de alcohol no es un alcohol destilable, tal como alcoholes grasos, el alcohol puede recuperarse por retirada de alcoholes en forma de sólidos o como aceites del recipiente de fermentación, separándolo de esta manera de la corriente de efluente acuoso.

Aunque la invención es susceptible de diversas modificaciones y formas alternativas, las realizaciones específicas de la misma se muestran a modo de ejemplo en este documento descritas en detalle. Debe entenderse que la descripción detallada de las mismas no pretende limitar la invención a la forma particular divulgada sino que, al contrario, la intención es cubrir todas las modificaciones equivalentes y alternativas que están dentro del espíritu y alcance de la presente invención como se define por las reivindicaciones adjuntas. La presente invención se ilustrará mediante la siguiente realización ilustrativa que se proporciona para ilustración únicamente y no debe considerarse limitante de la invención reivindicada de ninguna manera.

55 Realizaciones ilustrativas

Métodos generales y materiales

60 En los ejemplos, el aldehído o los precursores de aldehído se obtuvieron de Sigma-Aldrich Co.

Todo el bagazo que tenía los siguientes componentes se analizó usando métodos TAPPI convencionales (T-249, T-222, T-211) y tenía la siguiente composición promedio en una base seca:

65 Glucano 44,5 % en peso
Xilano 24,6 % en peso
Lignina 23,25 % en peso

Ceniza 2,79 % en peso
Otros 4,86 %

Métodos analíticos

5

Determinación de los componentes oxigenados en la capa acuosa

Se analiza una muestra o patrón por inyección en una corriente de una fase móvil que fluye a través de una columna Bio-rad (Aminex HPX-87H, 300 mm x 7,8 mm). El sistema de HPLC de fase inversa (Shimadzu) estaba equipado tanto con detectores de RI como de UV y las señales se registraron como picos en un sistema de adquisición de datos y de procesamiento de datos. Los componentes se cuantifican usando calibrado externo mediante curvas de calibrado basadas en la inyección de concentraciones conocidas de los componentes diana. Algunos de los componentes se calcularon usando un solo punto del patrón. Las muestras de referencia contenían un 0,5 % en peso de glucosa, xilosa y sorbitol en agua.

15

Condiciones del instrumento de HPLC:

Columna: Bio-Rad Aminex HPX-87H (300 mm x 7,8 mm)
Caudal: 0,6 ml/minuto
Horno de la columna: 30 °C
Volumen de inyección: 10 µl
Detector UV: a 320 nm
Detector RI: modo - A; intervalo - 100
Tiempo de ejecución: 70 minutos
Fase móvil: ácido sulfúrico 5 mM en agua

25

La muestra se inyecta directamente o se diluye en agua en primer lugar, pero que hay que asegurarse que no haya partículas. Se hace pasar a través del filtro de jeringa de 0,2 µm, si hay precipitación en la muestra o si la muestra está diluida. Las muestras se analizaron para el contenido de glucosa, xilosa, celobiosa, sorbitol, ácido fórmico, ácido acético, arabinosa, hidroximetilfurfural y furfural.

30

Ejemplos

Procedimiento general para la formación de ácidos α-hidroxisulfónicos

35

Los aldehídos y cetonas reaccionarán fácilmente con dióxido de azufre en agua para formar ácidos α-hidroxisulfónicos de acuerdo con la ecuación 1 anterior. Estas reacciones generalmente son rápidas y un tanto exotérmicas. El orden de adición (SO₂ a carbonilo o carbonilo a SO₂) no pareció afectar al resultado de la reacción. Si el carbonilo es capaz de experimentar reacciones de aldol, la preparación de mezclas concentradas (>30 % en peso) se realiza mejor a temperaturas por debajo de la ambiente para minimizar las reacciones secundarias. Se ha encontrado beneficioso seguir el transcurso de la reacción usando espectroscopía infrarroja *in situ* (ISIR) empleando sondas que pueden insertarse en recipientes o sistemas de reacción a presión. Hay numerosos fabricantes de tales sistemas, tales como la sonda Mettler Toledo Autochem's Sentinal. Además de poder ver los materiales de partida: agua (1640 cm⁻¹), carbonilo (de aprox. 1750 cm⁻¹ a 1650 cm⁻¹ dependiendo de la estructura de carbonilo orgánico) y SO₂ (1331 cm⁻¹), la formación del ácido α-hidroxisulfónico va acompañada de la formación de bandas características del grupo SO₃⁻ (ancho de banda de aproximadamente 1200 cm⁻¹) y las extensiones del grupo α-hidroxi (de bandas sencillas a múltiples a aproximadamente 1125 cm⁻¹). Además de supervisar la formación del ácido α-hidroxisulfónico, puede evaluarse fácilmente la posición relativa del equilibrio a cualquier temperatura y presión mediante las alturas de pico relativas de los componentes de partida y el complejo ácido. La presencia definitiva del ácido α-hidroxi sulfónico en las condiciones de hidrólisis de biomasa puede confirmarse también con la ISIR y es posible supervisar el crecimiento de azúcares en la mezcla de reacción supervisando las bandas de IR apropiadas.

50

Ejemplo 1

Formación de ácido α-hidroxietanosulfónico al 40 % en peso a partir de acetaldehído.

En un recipiente de reacción a presión Lab-Crest de 0,34 l (12 onzas) (frasco de Fischer-Porter) se pusieron 260 gramos de agua desgasificada con nitrógeno. A esto se le añadieron 56,4 gramos de acetaldehído mediante una jeringa con agitación. La mezcla de acetaldehído/agua no mostró una presión de vapor aparente. Los contenidos del frasco de Fischer-Porter se transfirieron a un reactor de acero C276 de 600 ml enfriado equipado con una óptica SiComp IR. Un recipiente de Hoke de un solo extremo se cargó con 81,9 de dióxido de azufre, se invirtió y se conectó a la parte superior del reactor. El SO₂ se añadió al sistema de reacción en una sola porción. La presión en el reactor se llevó a aproximadamente 3 bar y después se dejó caer rápidamente a presión atmosférica puesto que la ISIR indicaba la aparición y después rápido consumo del SO₂. La temperatura de la mezcla de reacción subió aproximadamente 31 °C durante la formación del ácido (de 14 °C a 45 °C). La ISIR y la presión de reacción

65

indicaban que la reacción se había completado en aproximadamente 10 minutos. La solución final mostró un espectro de infrarrojos con las siguientes características: una banda ancha centrada a 1175 cm^{-1} y dos bandas estrechas a 1038 cm^{-1} y 1015 cm^{-1} . El reactor se purgó dos veces por presurización con nitrógeno a 3 bar y después se ventiló. Esto produjo 397 gramos de una solución estable de ácido α -hidroxietano sulfónico al 40 % en peso sin acetaldehído o SO_2 residual. Una muestra de este material se disolvió en d_6 -DMSO y se analizó por RMN de ^{13}C , esto reveló dos absorbancias de carbono a 81,4 y 18,9 ppm correspondientes a los dos carbonos del ácido α -hidroxietano sulfónico sin otras impurezas orgánicas respecto al límite de detección (800:1).

Ejemplo 2

Formación de ácido α -hidroximetano sulfónico al 41 % en peso a partir de trioxano.

En un reactor de acero C276 de 600 ml equipado con una óptica SiComp IR se añadieron 280,29 gramos de agua desgasificada con nitrógeno y 46,88 gramos de trioxano. El reactor se selló y se purgó con nitrógeno y un recipiente de Hoke de un solo extremo se cargó con 101,26 gramos de dióxido de azufre, se invirtió y conectó a la parte superior del reactor. El SO_2 se añadió al sistema de reacción en una sola porción. No hubo una reacción aparente y la ISIR reveló bandas de IR consistentes únicamente con los componentes de partida. Esto es consistente con el hecho de que el trioxano debe calentarse para generar el carbonil formaldehído. La mezcla de reacción se calentó a $105\text{ }^\circ\text{C}$ con agitación, subiendo la presión de la mezcla a 8,3 bar. Al aproximarse a la temperatura diana tuvo lugar una reacción exotérmica, la presión en el reactor cayó a 4,1 bar debido al consumo de SO_2 y la temperatura subió de $105\text{ }^\circ\text{C}$ a $124\text{ }^\circ\text{C}$. La ISIR y la presión de reacción indicaron que la reacción se había completado en aproximadamente 10 minutos una vez iniciada. La solución final mostró un espectro de infrarrojos con las siguientes características: un ancho de banda centrado a 1185 cm^{-1} y una única banda estrecha a 1034 cm^{-1} (se observó un pequeño pico debido al exceso de SO_2 a 1331 cm^{-1}). Una vez que el reactor se hubo enfriado a temperatura ambiente y purgado dos veces por presurización con nitrógeno a 3 bar y después ventilado, esto produjo 423,92 gramos de una solución estable de ácido α -hidroximetano sulfónico al 41 % en peso sin formaldehído o SO_2 residual.

Ejemplo 3

Formación de ácido α -hidroximetano sulfónico al 40 % en peso a partir de paraformaldehído.

En un autoclave de 600 ml sellado y rociado con nitrógeno equipado con una sonda SiComp IR se cargaron 285,02 gramos (ml) de agua DI rociada con nitrógeno y 49,31 gramos de paraformaldehído (Aldrich 158127, lote MKAA1858, al 95 %). El autoclave se selló, se roció con nitrógeno y se agitó. La ISIR mostró agua y paraformaldehído disueltos. Un recipiente de Hoke que contenía 100,01 gramos de dióxido de azufre se pone boca abajo, se fija al reactor como un "inyector de tipo cámara de impulsión" y el dióxido de azufre se inyecta en el reactor a través de una válvula de bola. La ISIR inmediatamente mostró un crecimiento de la banda de SO_2 a 1331 cm^{-1} . La presión en el reactor sube a 3,31 barg. Se inicia una reacción lenta con bandas indicativas de ácido α -hidroximetano sulfónico en crecimiento. La reacción se acelera a medida que ocurre la exotermia de reacción, la temperatura del reactor sube de $25\text{ }^\circ\text{C}$ a $39\text{ }^\circ\text{C}$ a medida que la presión del reactor cae a 0,5 barg. La ISIR muestra el rápido crecimiento del ácido α -hidroximetano sulfónico y el SO_2 desaparece de la mezcla de reacción. El reactor se deja enfriar a temperatura ambiente y se purga dos veces por presurización con nitrógeno a 3 bar y después se ventila, esto produjo 430 gramos de una solución de ácido α -hidroximetanosulfónico al 40 % en peso.

Ejemplo 4

Formación de ácido α -hidroxisulfónico al 10 % en peso a partir de 2-furaladehído.

En un autoclave de 600 ml sellado y rociado con nitrógeno equipado con una sonda SiComp IR y una banda de calentamiento se cargaron 374,92 gramos de agua DI rociada con nitrógeno y 22,59 gramos de furfural (Aldrich lote MKBC2892). Un recipiente de Hoke que contenía 15,25 de dióxido de azufre (234 mmoles) se puso boca abajo y se fijó al reactor como "un inyector de cámara de impulsión". El reactor se cierra y se rocía 3 veces con gas nitrógeno. El agitador se pone en marcha y se inicia la adquisición ISIR. El dióxido de azufre se inyecta al reactor a través de una válvula de bola, la presión en el reactor alcanza brevemente los 2,25 barg y el SO_2 en la mezcla de reacción se observa en el espectro de ISIR. La formación del ácido α -hidroximetanosulfónico se observó inmediatamente en la ISIR por el crecimiento de una banda ancha a 1198 cm^{-1} con un pico sobresaliente a 1154 cm^{-1} y dos bandas estrechas a 1034 cm^{-1} y 1015 cm^{-1} . La temperatura del reactor sube de 26 a $29\text{ }^\circ\text{C}$. Esto produce aproximadamente 410 gramos de una solución de ácido α -hidroxisulfónico al 10 % en peso.

Ejemplo 5**Formación de ácido bis- α -hidroximetanosulfónico al 20 % en peso.**

5 En un reactor de C276 de 600 ml equipado con óptica IR se cargaron 366,36 gramos de agua rociada con nitrógeno y 63,45 gramos de solución de glicoxal al 40 % en peso. El reactor se selló, la agitación se inició y se purgó dos veces con nitrógeno. Un recipiente de Hoke que contenía 58,56 gramos de dióxido de azufre se puso boca abajo, se fijó al reactor como un "inyector de cámara de impulsión" y el dióxido de azufre se inyectó al reactor a través de una válvula de bola. La ISIR inmediatamente mostró un crecimiento de la banda de SO₂ a 1331 cm⁻¹. La presión en el reactor sube. Se inicia una reacción lenta con bandas indicativas de ácido bis- α -hidroximetano sulfónico en (un pico ancho a 1202 cm⁻¹ y un pico estrecho a 1030 cm⁻¹). La reacción se acelera a media que ocurre una exotermia de reacción, la temperatura del reactor sube de 23 °C a 29 °C a medida que cae la presión del reactor. La ISIR muestra el lento crecimiento del ácido α -hidroximetano sulfónico y el SO₂ gradualmente desaparece de la mezcla de reacción. El reactor se calentó a 50 °C y se mantuvo allí durante 30 minutos para completar la reacción. Se deja que el reactor se enfríe a temperatura ambiente y la presión en el reactor caiga a la atmosférica. Solo hay una traza de SO₂ en el espectro de ISIR (ligero exceso empleado). Este se purgó dos veces por presurización con nitrógeno a 3 bar y después se ventiló para retirar el exceso de SO₂, el procedimiento produjo 485 gramos de una solución de ácido bis- α -hidroximetano sulfónico al 20 % en peso. Obsérvese que las soluciones de glicoxal comerciales contienen muy poco carbonilo libre, el grueso del material está inmovilizado en forma de hidratos y oligómeros, lo que muestra que la formación del ácido α -hidroxisulfónico desplaza eficazmente el equilibrio a temperaturas bajas para invertir completamente todo el carbonilo incipiente en bis-ácido complejado.

Ejemplos 6-27**25 Hidrólisis de biomasa con soluciones de ácido α -hidroximetano sulfónico, Ejemplos 6 a 27.**

Este es el procedimiento general para los ejemplos 6 a 27, las condiciones utilizadas y los resultados se dan en la Tabla 1, el tipo de ácido empleado se muestra en la columna B, la concentración en la columna C, la temperatura diana en la columna D y el tiempo a la temperatura de reacción en la columna E. En un autoclave de 300 ml equipado con una sonda DiComp IR se pusieron aproximadamente 12 gramos de bagazo secado y troceado. A esto se le añadieron 100 gramos de una solución de ácido α -hidroxietano sulfónico, vertiendo suavemente este material sobre el bagazo en el reactor. Se selló el reactor equipado con bandas de calentamiento y se agitó la mezcla durante 5 minutos, después el sistema se purgó ligeramente tres veces con nitrógeno. El reactor contiene ahora una mezcla que comprende aproximadamente un 10,7 % en peso de biomasa en contacto con una solución de ácido α -hidroxi sulfónico (112 gramos de solución total).

La mezcla de reacción se agita (de 1000 a 1500 rpm como se observa en la columna I usando un impulsor descendente a 45°) y comienza la adquisición de los espectros de IR. La mezcla de reacción después se calienta a una temperatura diana y se mantiene durante el periodo de tiempo establecido. El calentamiento se interrumpe y el reactor se enfría a temperatura ambiente usando un flujo de aire comprimido. El reactor se ventiló y después se purgó con una corriente lenta de nitrógeno durante unos minutos para eliminar cualquier dióxido de azufre en el casquete de gas. El reactor se abrió y los contenidos se filtraron a través de un embudo de medio de frita de vidrio usando un aspirador de vacío. El reactor se enjuagó con tres porciones separadas de 25 ml de agua (obsérvese el peso de todos los enjuagues), usándose los enjuagues para completar la transferencia de sólidos y enjuagar los sólidos en el embudo. Para enjuagar completamente los sólidos en el embudo, era necesario desconectar el vacío, añadir el agua, suspender los sólidos por agitación manual y después reestablecer el vacío al filtro. Se obtuvo el peso acumulado del filtrado y los enjuagues. El filtrado después se analizó por HPLC y la recuperación de materiales a partir de la biomasa se calculó en comparación con la cantidad de precursores presentes en la biomasa. Los sólidos se secaron hasta un peso constante en aire.

50 En las Figuras 4 y 5 se muestran, respectivamente, la xilosa recuperada con el tiempo y los gramos de furfural/gramos de xilosa producidos con el tiempo para los Ejemplos 10 a 20. Para comparación, el furfural fabricado a partir de un tratamiento de ácido sulfúrico diluido a alta temperatura tradicional como se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° US2010/0184151 se muestra como un círculo en la Figura 5.

Tabla 1

A	B	C	D	E	F	G	H	I
Ejemplo	Ácido	Concentración de Ácido (% en peso)	Temperatura de Reacción (°C)	Tiempo a esa temperatura (h)	% de Recuperación de Xilosa en el Filtrado*	% de Recuperación de Glucosa en el Filtrado**	% de Recuperación de Furfural en el Filtrado***	Velocidad del Agitador
6	ácido α -hidroxietano sulfónico	10	80	22,5	55,43	3,16	0,37	1000 rpm
7	ácido α -hidroxietano sulfónico	10	80	24	55,26	4,24	0,51	1000 rpm
8	ácido α -hidroxietano sulfónico	40	80	5	55,97	3,84	0,60	1000 rpm
9	ácido α -hidroxietano sulfónico	<1	80	26,5	15,09	0,59	ND	1000 rpm
10	ácido α -hidroxietano sulfónico	10	80	0,1 ***	2,56	0,41	ND	1000 rpm
11	ácido α -hidroxietano sulfónico	10	80	3,0	54,89	1,55	ND	1000 rpm
12	ácido α -hidroxietano sulfónico	10	100	0,1 ***	46,17	1,28	0,073	1000 rpm
13	ácido α -hidroxietano sulfónico	10	90	2	66,16	3,16	0,47	1000 rpm
14	a ácido α -hidroxietano sulfónico	10	100	1	65,02	4,32	0,27	1000 rpm
15	ácido α -hidroxietano sulfónico	10	100	2	75,60	6,51	1,63	1000 rpm
16	ácido α -hidroxietano sulfónico	10	100	4	82,7	7,79	3,33	1000 rpm
17	ácido α -hidroxietano sulfónico	10	90	1	66,12	3,77	0,54	1500 rpm
18	ácido α -hidroxietano sulfónico	20	90	2	72,9	5,65	1,36	1500 rpm
19	ácido α -hidroxietano sulfónico	10	90	4	70,68	5,50	1,70	1500 rpm

A	B	C	D	E	F	G	H	I
Ejemplo	Ácido	Concentración de Ácido (% en peso)	Temperatura de Reacción (°C)	Tiempo a esa temperatura (h)	% de Recuperación de Xilosa en el Filtrado*	% de Recuperación de Glucosa en el Filtrado**	% de Recuperación de Furfural en el Filtrado***	Velocidad del Agitador
20	ácido α -hidroxietano sulfónico	20	100	1	73,46	6,20	1,02	1500 rpm
21	ácido α -hidroximetano sulfónico	10	80	22	44,46	4,14	0,67	1000 rpm
22	ácido α -hidroximetano sulfónico	10,25	120	3,3	55,48	12,58	9,37	1000 rpm
23	ácido α -hidroximetano sulfónico	41	80	25,5	15,33	12,43	0,82	1000 rpm
24	ácido α -hidroximetano sulfónico	41	80	0,1 ***	67,12	4,66	0,88	1000 rpm
25	ácido α -hidroximetano sulfónico	10	80	0,1 ***	8,61	0,48	ND	1000 rpm
26	ácido bis α -dihroximetano sulfónico	10,6	80	2	53,85	1,57	ND	1000 rpm
27	ácido bis α -dihroximetano sulfónico	10,6	80	21	73,16	5,42	ND	1000 rpm

*Basado en el % en peso de xilano en la alimentación (0,88 gramos de xilano producen 1,0 gramos de xilosa teórica)

**Basado en % en peso de glucano en la alimentación

***El reactor se llevó a la temperatura designada y se paró inmediatamente

Ejemplos 28 y 29

Tratamiento de la biomasa con ácido α -hidroxietanosulfónico frente a SO_2 /agua5 *Reacción con SO_2 y agua (sin compuesto de carbonilo, por lo tanto, sin ácido α -hidroxisulfónico):*

En un autoclave de 300 ml equipado con una sonda DiComp IR se pusieron 12 gramos de bagazo secado y troceado. A esto se añadieron 95 gramos de agua (5277 moles) vertiendo suavemente sobre el bagazo en el reactor. Sellar el reactor equipado con bandas de calentamiento y poner en marcha el agitador (1500 rpm). Después el sistema se purga ligeramente tres veces con nitrógeno. Invertir un recipiente de Hoke de un solo extremo que contenía 5,44 gramos de dióxido de azufre (84,9 mmoles) y conectarlo al reactor. El recipiente de Hoke se abrió al reactor y el SO_2 se añadió en una sola porción. Su presencia en la mezcla de reacción se observó mediante una fuerte banda estrecha en la ISIR característica del SO_2 a 1331 cm^{-1} . El reactor contiene ahora una mezcla que comprende aproximadamente un 10,71 % en peso de biomasa en contacto con una mezcla de SO_2 /agua a 0,61 barg y 25 °C. La mezcla de reacción se calentó a 90 °C y se mantuvo allí durante 4 horas. La presión a 90 °C era 3,13 barg. El calentamiento se interrumpe y el reactor se enfría a temperatura ambiente usando un flujo de aire comprimido. El reactor se ventiló y después se purgó con una corriente lenta de nitrógeno durante unos cuantos minutos para eliminar cualquier dióxido de azufre en el casquete de gas. El reactor se abrió y los contenidos se filtraron a través de un embudo de medio de frita de vidrio usando un aspirador de vacío. El reactor se enjuagó con tres porciones separadas de 25 ml de agua para completar la transferencia de los sólidos y enjuagar los sólidos en el embudo. Se obtuvo el peso acumulado del filtrado y los enjuagues. El filtrado después se analizó por HPLC y la recuperación de materiales a partir de la biomasa se calculó por comparación con la cantidad de precursores presentes en la biomasa. Los sólidos se secaron hasta un peso constante en aire. Los resultados se presentan en la Tabla 2.

25

Reacción con acetaldehído, SO_2 y agua (ácido α -hidroxietanosulfónico):

En un autoclave de 300 ml equipado con una sonda DiComp IR se pusieron 12,03 gramos de bagazo secado y troceado. A esto se le añadieron 100 gramos de una solución de ácido α -hidroxietano sulfónico al 10 % (esta estaba comprendida de aproximadamente 91,26 gramos de agua, 5,07 gramos de SO_2 y 3,5 gramos de acetaldehído), vertiendo suavemente este material sobre el bagazo en el reactor. La mezcla de reacción se calentó a 90 °C y se mantuvo ahí durante 4 horas. La presión a 90 °C era 1,36 barg y la ISIR confirmó la presencia del ácido α -hidroxietano sulfónico durante la reacción. El calentamiento se interrumpe y el reactor se enfría a temperatura ambiente usando un flujo de aire comprimido. El reactor se ventiló y después se purgó con una corriente lenta de nitrógeno durante unos cuantos minutos para eliminar cualquier dióxido de azufre en el casquete de gas. El reactor se abrió y lo contenidos se filtraron a través de un embudo de medio de frita de vidrio usando un aspirador de vacío. El reactor se enjuagó con tres porciones separadas de 25 ml de agua para completar la transferencia de sólidos y enjuagar los sólidos en el embudo. Se obtuvo el peso acumulado del filtrado y los enjuagues. El filtrado se analizó después por HPLC y la recuperación de materiales a partir de la biomasa se calculó por comparación con la cantidad de precursores presentes en la biomasa. Los sólidos se secaron hasta un peso constante en aire. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

A partir de la ausencia sustancial de conversión de xilano a xilosa sin la adición de acetaldehído (puesto que la formación de ácido α -hidroxisulfónico requiere un carbonilo, esto representa una ausencia de ácido α -hidroxisulfónico, pero todos los demás componentes están presentes), esto ilustra que el ácido α -hidroxisulfónico es responsable de la actividad de hidrólisis. Los resultados del ejemplo comparativo 28 y el ejemplo 29 se muestran en la figura 4. El ejemplo 28 se muestra como un círculo en la Figura 4.

45

Tabla 2

Ejemplo	Ácido	% de Recuperación de Xilosa en el Filtrado*	% de Recuperación de Glucosa en el Filtrado**	% de Recuperación de Furfural en el Filtrado***
28	solo SO_2 - sin aldehído	14,71	0,55	ND
29	ácido α -hidroxietano sulfónico	71,11	5,03	1,16

*Basado en el % en peso de xilano en la alimentación (x gramos de xilano producen y gramos de xilosa teórica)
 **Basado en el % en peso de celulosa y el % en peso de celobiosa en la alimentación
 ***Basado en el % en peso de xilano en la alimentación

50

Puede verse a partir de los resultados que la formación de ácido α -hidroxietano sulfónico con un compuesto de carbonilo es necesaria para obtener la excelente recuperación de azúcar fermentable en el proceso de la invención.

Ejemplo 30**Hidrólisis de la biomasa con ácido α -hidroxietano sulfónico seguido de inversión del ácido por despresurización y destilación de los componentes.**

5 En 20 gramos de agua desgasificada con nitrógeno se añadieron 50 gramos de ácido α -hidroxietano sulfónico al 40 % en peso en una solución para dar 100 gramos de una solución de ácido α -hidroxietano sulfónico al 20 %. Esta se vertió suavemente sobre 12,03 gramos de bagazo secado y troceado en un autoclave de 300 ml equipado con una sonda DiComp IR. El reactor se selló y la mezcla se agitó durante 5 minutos, después se presurizó a 6,8 barg con nitrógeno para ensayar la integridad a presión. Después de ventilar el reactor a presión atmosférica la unidad se cerró y se calentó a 100 °C en 18 minutos. La mezcla de reacción se mantuvo a 100 °C durante 1 hora. La presión a 100 °C era de 4,3 barg. La evidencia espectral muestra la presencia de ácido α -hidroxietano sulfónico así como SO₂ y acetaldehído. Aproximadamente un 75 % en moles del ácido cargado está en forma ácida medido por RMN a temperatura variable en estas condiciones y el nivel de ácido es estable. Durante el periodo de calentamiento un recipiente de Hoke tarado de 75 ml equipado con una trampa de enfriamiento se conectó al reactor y se enfrió con hielo seco triturado. Al final de un periodo de 1 hora la válvula se abrió hacia el casquete de gas y condujo a la trampa de enfriamiento, que se abre lentamente, y la presión en el reactor disminuye rápidamente. En la Figura 6 se muestra una vista de los espectros de ISIR en una representación en cascada con el tiempo, que revela una caída correspondiente en el SO₂ y acetaldehído en la solución. Las bandas de IR para un ácido α -hidroxietano sulfónico disminuyen y son virtualmente inexistentes a los 15 minutos de ventilación, esto se muestran en la figura 6. Después de 20 minutos de ventilación tanto el reactor como la trampa de enfriamiento se sellan. El reactor se presuriza con 2,7 barg de nitrógeno y se deja enfriar a temperatura ambiente. El reactor se abre y los contenidos se filtran a través de un embudo de medio de frita de vidrio usando un aspirador de vacío. El reactor se enjuagó con tres porciones separadas de 25 ml de agua para completar la transferencia de los sólidos y enjuagar los sólidos en el embudo. Se obtuvo el peso acumulado del filtrado y los enjuagues. El filtrado después se analizó por HPLC y la recuperación de materiales a partir de la biomasa se calculó en comparación con la cantidad de precursores presentes en la biomasa. Estos resultados se representan como ejemplo 20 en la Tabla 1. Los sólidos se secaron hasta un peso constante en aire.

30 Se deja que la trampa de vapor se caliente a temperatura ambiente y se capturaron 20,31 gramos de material en la trampa. El análisis por IR reveló que la trampa contenía ácido α -hidroxietano sulfónico, SO₂ y acetaldehído. Había una cantidad de agua insuficiente en la trampa para la reforma completa del ácido. Esto muestra la naturaleza reversible y reciclable del ácido así como el tratamiento con ácido concurrente y exitoso de la biomasa.

Ejemplos 31-33**Hidrólisis de biomasa con ácido α -hidroxietano sulfónico formado *in situ* con y sin exceso de SO₂.**

40 A aproximadamente 84 gramos de agua destilada enfriada en un frasco tarado se le añadieron 7,14 gramos de acetaldehído que se habían mezclado para disolverlos. El frasco se tapó y se dejó calentar a temperatura ambiente. El frasco se pesó para confirmar las cantidades precisas de acetaldehído disueltas en el agua. Aproximadamente 90 gramos de esta solución se vertieron sobre 12 gramos de bagazo secado y troceado en un autoclave de 300 ml equipado con una sonda DiComp IR. El reactor se selló y se presurizó con nitrógeno a 6,8 barg para asegurar la integridad de la presión. Un recipiente de Hoke de un solo extremo con una válvula de bola cerrada, que contenía la cantidad requerida de dióxido de azufre, se puso boca abajo y se conectó al reactor. Después de que la mezcla se hubiera agitado durante diez minutos el espectro de IR reveló la presencia de agua y acetaldehído, pero nada de ácido α -hidroxisulfónico. El dióxido de azufre se inyecta en el reactor agitado a 24 °C en una sola porción. Esto fue acompañado de una exotermia inmediata y la ISIR indicaba la rápida formación de ácido α -hidroxietano sulfónico. Catorce minutos después de la adición de SO₂, no había un cambio observable en la composición de la mezcla de reacción por ISIR y la temperatura de la mezcla había subido a 32 °C. Después se aplicó calor al reactor para subir la temperatura a 100 °C. La reacción se mantuvo a esa temperatura durante una hora. Durante la subida de temperatura y mientras estaba a esa temperatura, se observaron SO₂ y acetaldehído que estaban presentes en la mezcla de reacción por ISIR, pero una porción sustancial del ácido α -hidroxietano sulfónico permanece. Los espectros de IR de la mezcla de reacción muestran también que la adición de un exceso de SO₂ en la mezcla de reacción da como resultado un aumento en la cantidad de ácido α -hidroxi sulfónico a temperaturas elevadas. La reacción de hidrólisis se deja continuar durante una hora a 100 °C y después el ácido se invierte cuando el casquete de gas se libera en una trampa comprendida por 70 gramos de agua en un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 ml que está equipado con un condensador de acetona y hielo seco. La salida del condensador se dirige a una trampa caustica para evitar el paso de cualquier SO₂ a la atmósfera. El agua en el matraz se agita con una barra agitadora y el matraz se enfría en un baño de hielo húmedo. La ventilación del reactor se dirige inmediatamente por encima del agua enfriada con hielo. Esto se ralentiza hasta que se detiene y puede verse que condensa un líquido del condensador de hielo seco, cuando este cesa y la presión en el reactor es < 0,2 barg, la temperatura del reactor se subió a 110 °C y la ventilación continuó durante 15 minutos adicionales. La válvula de ventilado en el reactor se cierra y el ventilador se enfría a temperatura ambiente. Se deja que la trampa se caliente a temperatura ambiente. La trampa se pesó para obtener el balance de material sobre la vaporización y el líquido se analizó por IR y análisis de

RMN de ¹³C y ¹H que se usa para calcular el porcentaje de recuperación del ácido empleado. El reactor enfriado se abrió y los contenidos se filtraron a través de un embudo de medio de fritas de vidrio usando un aspirador de vacío para dirigir el líquido a través del embudo. El reactor se enjuagó con tres porciones separadas de 25 ml de agua para completar la transferencia de los sólidos y enjuagar los sólidos en el embudo. Se obtuvo el peso acumulado del filtrado y los enjuagues y el filtrado se analizó por HPLC. El sólido residual se secó hasta un peso constante en aire.

Ejemplo 34

Formación de ácido α-hidroxietano sulfónico a partir de una mezcla de acetaldehído-etanol

La reacción en el Ejemplo 34 se realiza de una manera similar al Ejemplo 31 excepto que la fuente de acetaldehído era una mezcla 1:1 de una mezcla de acetaldehído y etanol. Esto simula la corriente intermedia producida por oxidación de etanol a acetaldehído. El resultado se muestra en la Tabla 3.

Ejemplo	Ácido	Concentración de Ácido (% en peso)	% Recuperación de Xilosa en el Filtrado*	% Recuperación de Glucosa en el Filtrado**	% Recuperación de Furfural en el Filtrado***	Velocidad del Agitador
31	ácido α-hidroxietano sulfónico (<i>in situ</i> SO ₂ :AA 1:1)	20	72,78	6,47	0,68	1500 rpm
32	ácido α-hidroxietano sulfónico (<i>in situ</i> SO ₂ :AA 1,15:1)	20	76,07	7,15	0,75	1500 rpm
33	ácido α-hidroxietano sulfónico (<i>in situ</i> SO ₂ :AA 1:1)	20	75,90	7,55	0,61	1500 rpm
34	ácido α-hidroxietano sulfónico (Etanol/AA/SO ₂)	20	71,80	6,94	-----	1500 rpm

*Basado en el % en peso de xilano en la alimentación (x gramos de xilano producen y gramos de xilosa teórica)
 **Basado en el % en peso de glucano en la alimentación

Ejemplos 35-41

Hidrólisis enzimática de biomasa tratada con ácidos α-hidroxisulfónicos

Las reacciones de hidrólisis enzimática se realizaron en viales de 10 ml de fondo cónico y pared fina con agitación magnética. A estos viales se añadieron aproximadamente 0,3 gramos de sustrato de biomasa, 7,7 gramos de agua DI, 0,5 gramos de tampón acetato sódico a pH 5. Esto se ajustó con ácido clorhídrico 1 normal a un pH de aproximadamente 5,0. Los viales se colocan en un bloque de agitación/calentamiento a 52 °C ajustado a 800 rpm. Las mezclas se dejaron agitar durante 30 minutos y después se retiraron individualmente del bloque y se añadieron 500 µl de la enzima GC 220 obtenida de Genencor. Se dejó que esto se hidrolizara durante un total de 72 horas retirando alícuotas para el análisis de glucosa y sacarosa a las horas indicadas del transcurso de tiempo. Este procedimiento se usó para hidrolizar el bagazo tratado con ácido α-hidroxietano sulfónico y ácido α-hidroximetano sulfónico, ejemplos 16, 17, 18, 19, 20 y 29 en la Tabla 1 y Tabla 2. Las cantidades exactas de materiales usados y los resultados se muestran en la Tabla 4. Puede verse que el material tratado con el ácido α-hidroximetano sulfónico proporcionaba acceso mejorado a la celulosa contenida en las enzimas. Como se muestra en la Tabla 4, comparado con el bagazo no tratado, el bagazo tratado con ácido α-hidroxietano sulfónico permite una conversión sustancialmente completa a glucosa.

Tabla 4

Ejemplo	35	36	37	38	39	40	41
Fuente de biomasa (Ej. N°)	16	17	18	19	20	29	Alimentación no Tratada
Peso de Muestra (g)*	0,3025	0,3034	0,3008	0,3050	0,3044	0,3050	0,3028
Agua DI inicial (ml)	7,7733	7,7470	7,7451	7,7700	7,7700	7,8056	7,7674
Solución de Acetato 23,01 g/250 g total	0,5165	0,5178	0,5204	0,5100	0,5100	0,5161	0,5098

Ejemplo	35	36	37	38	39	40	41
Agua DI final (ml)	1,0064	1,0106	1,0101	1,0100	1,0100	1,0078	1,0325
Envase de enzima (ml)	0,5580	0,5140	0,5105	0,5371	0,5560	0,5518	0,5409
Total	10,1567	10,0928	10,0869	10,1321	10,1504	10,1863	10,1534
Glucosa g/l							
1 h	0,380	0,550	0,710			0,550	
2 h	0,510	0,710	0,780	0,705	0,942	0,710	
4 h	0,670	0,840	0,940			0,820	
24 h	1,500	1,420	1,630	1,43	1,74	1,450	
48 h	1,690	1,600	1,710	1,68		1,810	
65 h							
72 h	1,800	1,610	1,760	1,85	1,84	1,860	0,42
Recuperación de Glucosa (%)**							
1 h							
2 h				38	52		
4 h							
24 h				78	95		
48 h				91			
65 h							
72 h				100	101		23
*Contenido de humedad tenido en cuenta para el análisis							
**Base para la recuperación de glucosa glucano/celulosa en la alimentación							

Ejemplos 42-45

5 **Ensayos de estabilidad a largo plazo del ácido α -hidroxietano sulfónico seguido de la inversión y recuperación por cabeza del ácido α -hidroxietano sulfónico.**

En un reactor Parr de C276 de 2 litros equipado con óptica IR *in situ* se añadieron 1000 gramos de ácido α -hidroxietano sulfónico (HESA, aprox. 5 o 10 % en peso) preparado por dilución de una solución madre al 40 % en peso del ácido con agua desionizada. La concentración diana se confirmó por RMN de protones de la mezcla de partida integrando los picos para agua y ácido. La integridad de la presión del sistema de reactor y la sustitución de la atmósfera se consiguió por presurización con nitrógeno a 690 kPa (100 psig), donde el reactor sellado se mantuvo durante 15 minutos sin pérdida de presión seguido de ventilación a presión atmosférica tras lo cual el reactor se selló. El reactor después se calentó de 90 a 120 °C y se mantuvo a la temperatura diana durante cuatro horas. Durante este periodo de tiempo la IR *in situ* revela la presencia de HESA, SO₂ y acetaldehído en una mezcla en equilibrio. Los ensayos a mayor temperatura tenían el equilibrio desplazado más hacia los componentes de partida que los ensayos a menor temperatura, indicativo de un equilibrio real. Al final de cuatro horas la inversión de ácido se consiguió por apertura del casquete de gas del reactor a un sistema de condensación de cabeza para la recuperación del ácido y ajustando la temperatura del reactor a 100 °C. Este sistema de cabeza está comprendido por un matraz encamisado de 1 litro equipado con una sonda IR *in situ* basada en fibra óptica, un condensador de acetona y hielo seco en la salida y la entrada del gas que llega a través de un condensador de acero de 46 cm (18") de longitud fabricado de un núcleo de un tubo de C-276 de 6,35 mm (¼") de diámetro equipado dentro del tubo de acero inoxidable de 12,7 mm (½") con conexiones apropiadas para conseguir un condensador de carcasa en tubos que drenaba hacia abajo hacia el matraz de recuperación. El matraz de recuperación se cargó con 400 gramos de agua DI y el condensador y el matraz encamisados se enfriaron con un fluido en circulación mantenido a 1 °C. El progreso de la inversión de ácido se controló mediante el uso de IR *in situ* tanto en el reactor Parr como en el matraz de condensación de cabeza. Durante la inversión, el primer componente en dejar el reactor Parr fue el SO₂ seguido rápidamente de una disminución en las bandas para HESA. En correspondencia, las bandas para SO₂ subieron en el matraz de recuperación y después rápidamente cayeron a medida que se formaba HESA a partir de la combinación de acetaldehído vaporizado con este componente. La inversión continuó hasta que la IR *in situ* del reactor Parr mostró que no quedaban trazas del ácido α -hidroxietano sulfónico. La IR de la corriente de cabeza reveló que la concentración de HESA en este punto había alcanzado un máximo y después empezó a disminuir debido a la dilución con agua condensada, libre de componentes de ácido α -hidroxietano sulfónico, acumulándose en el matraz de recuperación. El reactor después se selló y se enfrió a temperatura ambiente. El líquido residual en el reactor Parr y el ácido recuperado por cabeza se analizaron mediante RMN de protones para la concentración de HESA. Los resultados se muestran en la tabla a continuación indicando la recuperación de ácido con prácticamente nada de HESA residual en el reactor Parr.

Ejemplo	Partida [HESA] % en peso	Temperatura de Reacción °C	Tiempo de Inversión (min)	[HESA] en cabeza (% en peso)	Masa en cabeza (g)	% de HESA recuperado	Balace de Masa Global %
42	10,01	90	42	15,15	243,1	96,9	99,4
43	10,07	105	39	14,33	241,4	91,3	99,3
44	5,11	105	40	7,39	255,1	94,7	99,5
45	5,36	120	37	8,42	163,3	88,5	99,4

Ejemplo 46

5 Hidrólisis ácida de paja de trigo con ácido α -hidroxietano sulfónico al 10 % en peso a 120 °C durante una hora seguido de inversión y recuperación por cabeza del ácido α -hidroxietano sulfónico.

En un reactor Parr de C276 de 2 litros equipado con óptica IR *in situ* se añadieron 120,1 gramos de paja de trigo caracterizada composicionalmente [base en seco: xilano 22,1 % en peso; glucano 38,7 % en peso] troceada hasta partículas de 0,5 cm nominal. A esto se le añadieron 999,1 gramos de ácido α -hidroxietano sulfónico al 9,6 % en peso (HESA) preparado por la dilución de una solución madre al 40 % en peso del ácido con agua desionizada. La concentración diana del ácido se confirmó por RMN de protones de la mezcla de partida integrado sobre los picos para agua y ácido. El reactor se selló y la integridad de la presión del sistema del reactor y la sustitución de la atmósfera de aire se consiguió por presurización con nitrógeno a 690 kPa (100 psig) donde el reactor sellado se mantuvo durante 15 minutos sin pérdida de presión seguido de ventilación a presión atmosférica donde el reactor se selló. El reactor después se calentó a 120 °C y se mantuvo a la temperatura diana durante una hora. Durante este periodo de tiempo la IR *in situ* revela la presencia de HESA, SO₂ y acetaldehído en una mezcla en equilibrio. Al final del periodo de reacción la inversión de ácido se consiguió por abertura del casquete de gas del reactor a un sistema de condensación de cabeza para recuperación del ácido y ajustando la temperatura del reactor a 100 °C. Este sistema de recuperación por cabeza era el mismo que el usado en los ejemplos 42-45 anteriores. El progreso de la inversión de ácido se supervisó mediante el uso de IR *in situ* tanto en el reactor Parr como en el matraz de condensación de cabeza. La inversión se continuó durante un total de 52 minutos hasta que la IR *in situ* del reactor Parr mostró que no quedaban trazas del ácido α -hidroxietano sulfónico o SO₂ en la mezcla de reacción. El reactor después se selló y se enfrió a temperatura ambiente. Al condensado de cabeza se le añadieron 182,6 gramos de masa al agua de partida y produjo una solución de HESA al 15,0 % en peso (según se analiza por RMN de protones) para una recuperación de ácido total del 91 % del HESA de partida empleado. El reactor enfriado se abrió y los contenidos se filtraron a través de un embudo de medio de frita de vidrio usando un aspirador de vacío para dirigir el líquido a través del embudo. El reactor se enjuagó con tres porciones separadas de agua (anotando el peso en todos los enjuagues, que hacían un total de 754 gramos), usándose los enjuagues para completar la transferencia de sólidos y enjuagar los sólidos en el embudo. El sólido residual se secó hasta un peso constante en el aire y después se analizó para el contenido de humedad, revelando que aproximadamente un 40 % de la biomasa se había disuelto durante el tratamiento con ácido. El análisis por HPLC de los 1362 gramos del filtrado más los enjuagues reveló una recuperación del 87,6 % del xilano de partida que se había convertido a xilosa monomérica y un 8,2 % de la celulosa de partida se había convertido a glucosa. El filtrado y la corriente de cabeza contenían cantidades insignificantes de furfural (0,1 gramos en total). El balance de material total de materiales recuperados a materiales de partida era del 98,2 %.

Ejemplo 47

40 Hidrólisis ácida de sorgo expelido y ensilado húmedo con ácido α -hidroxietano sulfónico al 10 % en peso a 100 °C durante una hora seguido de inversión y recuperación por cabeza del ácido α -hidroxietano sulfónico.

En un reactor Parr de C276 de 300 ml equipado con óptica IR *in situ* se le añadieron 26,6 gramos de sorgo dulce ensilado húmedo, no caracterizado, que tenía humedad libre expelida, troceado hasta partículas nominales de < 1 cm (esto era 12,45 gramos en una base seca en peso). A esto se le añadieron 100 gramos de ácido α -hidroxietano sulfónico al 19 % en peso (HESA) preparado por dilución de una solución madre al 40 % en peso del ácido con agua desionizada. La concentración diana de ácido se confirmó por RMN de protones de la mezcla de partida integrando los picos para agua y ácido. El reactor se selló y la integridad de la presión del sistema de reactor y el reemplazo de atmósfera de aire se consiguió por presurización con nitrógeno a 690 kPa (100 psig), donde el reactor sellado se mantuvo durante 15 minutos sin pérdida de presión seguido de ventilado a presión atmosférica donde el reactor se selló. El reactor después se calentó a 100 °C y se mantuvo a esa temperatura diana durante una hora. Durante este periodo de tiempo la IR *in situ* revela la presencia de HESA, SO₂ y acetaldehído en una mezcla en equilibrio. Se observó un crecimiento en las bandas características tanto de glucosa como de xilosa durante este periodo de tiempo. Al final del periodo de reacción la inversión de ácido se consiguió mediante la abertura del casquete de gas

del reactor a un sistema de condensación por cabeza para la recuperación del ácido mientras se mantenía la temperatura del reactor a 100 °C. Este sistema de recuperación por cabeza era un tubo de C-267 de 6,35 mm (¼") que se extiende hacia abajo hacia un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 ml cargado con 70 gramos de agua DI, sumergido en un baño de hielo húmedo y equipado con un condensador de hielo seco/acetona en la salida.

5 El progreso de la inversión de ácido se controló mediante el uso de IR *in situ* en el reactor Parr. La inversión continuó hasta que la IR *in situ* del reactor Parr mostró que no quedaban trazas del ácido α -hidroxietano sulfónico o SO₂ en la mezcla de reacción. El reactor después se selló y se enfrió a temperatura ambiente. El condensado de cabeza contenía un 90,45 % del HESA cargado al sistema según se analiza por RMN de protones. El reactor enfriado se abrió y los contenidos se filtraron a través de un embudo de medio de frita de vidrio usando un aspirador de vacío para dirigir el líquido a través del embudo. El reactor se enjuagó con tres porciones separadas de agua, anotando el peso de todos los enjuagues, usándose los enjuagues para completar la transferencia de los sólidos y enjuagar los sólidos en el embudo. El sólido residual se secó hasta un peso constante en el aire y después se analizó para el contenido de humedad, revelando que aproximadamente un 48 % de la biomasa se había disuelto durante el tratamiento con ácido. El análisis por HPLC del filtrado más los enjuagues reveló una recuperación acumulada de 1,697 gramos de xilosa monomérica y 1,371 gramos de glucosa monomérica. El filtrado y las corrientes de cabeza contenían cantidades insignificantes de furfural (0,015 gramos en total). El balance de material total de los materiales recuperados a materiales de partida fue del 96,4 %. Los niveles relativamente altos de glucosa recuperados durante esta hidrólisis se debían a la fácil hidrólisis del almidón (aprox. 15 % en peso) en la biomasa de partida por HESA.

20 Ejemplo 48

Ejemplo comparativo, tratamiento con agua caliente de sorgo expelido y ensilado a 100 °C durante una hora.

En un reactor Parr de C276 de 300 ml equipado con óptica IR *in situ*, se le añadieron 25,64 gramos de sorgo dulce ensilado húmedo, no caracterizado, que tenía humedad libre expelida, y troceado a partículas nominales de < 1 cm (esto era 12,00 gramos en una base en peso seco). Este era el mismo material de partida que el del ejemplo 47. A este se le añadieron 100 gramos de agua desionizada. El reactor se selló y la integridad de la presión del sistema de reactor y la sustitución de la atmósfera de aire se consiguió por presurización con nitrógeno a 690 kPa (100 psig) donde el reactor sellado se mantuvo durante 15 minutos sin pérdida de presión seguido de ventilación a presión atmosférica donde el reactor se selló. El reactor después se calentó a 100 °C y se mantuvo a esa temperatura diana durante una hora. Al final del periodo de reacción, el reactor sellado se enfrió a temperatura ambiente. El reactor enfriado se abrió y los contenidos se filtraron a través de un embudo de medio de frita de vidrio usando un aspirador de vacío para dirigir el líquido a través del embudo. El reactor se enjuagó con tres porciones separadas de agua, anotando el peso de todos los enjuagues, usándose los enjuagues para completar la transferencia de sólidos y enjuagar los sólidos en el embudo. El sólido residual se secó hasta un peso constante en el aire. El análisis por HPLC del filtrado más los enjuagues reveló una recuperación acumulada de 0,011 de xilosa monomérica y 0,049 gramos de glucosa monomérica. No se detectó furfural en este ensayo. Los azúcares insignificantes obtenidos en ausencia del ácido demuestran la eficacia relativa del ácido α -hidroxisulfónico en la hidrólisis de azúcares.

40 Ejemplo 49

Hidrólisis ácida de rastrojo de maíz con ácido α -hidroxietano sulfónico al 20 % en peso a 100 °C durante una hora seguido de inversión y recuperación por cabeza del ácido α -hidroxietano sulfónico.

45 En un reactor Parr de C276 de 300 ml equipado con óptica IR *in situ*, se le añadieron 12,0 gramos de rastrojo de maíz no caracterizado, troceado a partículas nominales de < 1 cm (esto era 10,96 gramos de biomasa en una base en peso seco). A esto se le añadieron 100 gramos de ácido α -hidroxietano sulfónico al 20 % en peso (HESA) preparado por la dilución de una solución madre al 40 % en peso del ácido con agua desionizada. La concentración diana del ácido se confirmó por RMN de protones de la mezcla de partida integrando los picos para agua y ácido. El reactor se selló y la integridad de la presión del sistema de reactor y la sustitución de la atmósfera de aire se consiguió por presurización con nitrógeno a 690 kPa (100 psig) donde el reactor sellado se mantuvo durante 15 minutos sin pérdida de presión seguido de ventilación a presión atmosférica donde el reactor se selló. El reactor después se calentó a 100 °C y se mantuvo a esa temperatura diana durante una hora. Durante este periodo de tiempo la IR *in situ* reveló la presencia de HESA, SO₂ y acetaldehído en una mezcla en equilibrio. Al final del periodo de reacción la inversión de ácido se consiguió mediante la abertura del casquete de gas del reactor a un sistema de condensación por cabeza para la recuperación del ácido mientras se mantenía la temperatura del reactor a 100 °C. Este sistema de recuperación por cabeza era un tubo de C-267 de 6,35 mm (¼") que se extiende hacia abajo hacia un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 ml cargado con 70 gramos de agua DI, sumergido en un baño de hielo húmedo y equipado con un condensador de hielo seco/acetona en la salida. El progreso de la inversión de ácido se supervisó mediante el uso de IR *in situ* en el reactor Parr. La inversión continuó hasta que la IR *in situ* del reactor Parr no mostró que quedaran trazas del ácido α -hidroxietano sulfónico o SO₂ en la mezcla de reacción. El reactor después se selló y se enfrió a temperatura ambiente. El condensado de cabeza contenía un 90,00 % del HESA cargado al sistema según se analiza por RMN de protones. El reactor enfriado se abrió y los contenidos se filtraron a través de un embudo de medio de frita de vidrio usando un aspirador de vacío para dirigir el líquido a través del embudo. El reactor se enjuagó con tres porciones separadas de agua, anotando el peso de todos los

5 enjuagues, usándose los enjuagues para completar la transferencia de sólidos y enjuagar los sólidos en el embudo. El sólido residual se secó hasta un peso constante en el aire y después se analizó para el contenido de humedad revelando que se recuperó aproximadamente el 58,2 % de la biomasa. El análisis por HPLC del filtrado más los enjuagues reveló una recuperación acumulada de 2,69 gramos de xilosa monomérica y 0,325 gramos de glucosa monomérica. El filtrado y las corrientes de cabeza contenían 0,23 gramos de furfural (total).

REIVINDICACIONES

1. Un método que comprende:
- 5 (a) proporcionar una biomasa que contiene polisacáridos;
 (b) poner en contacto la biomasa con una solución que contiene al menos un ácido α -hidroxisulfónico, hidrolizando de esta manera la biomasa para producir al menos un producto que contiene azúcar fermentable; y
 (c) opcionalmente, retirar el ácido α -hidroxisulfónico en su forma componente del producto por calentamiento y/o
 10 reducción de la presión para producir un producto con ácido retirado que contiene al menos un azúcar fermentable sustancialmente libre del ácido α -hidroxisulfónico.
2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 donde el ácido α -hidroxisulfónico está presente en una cantidad de aproximadamente el 1 % en peso a aproximadamente el 55 % en peso, basado en la solución.
- 15 3. Un método de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 donde el ácido α -hidroxisulfónico se produce a partir de (a) un compuesto de carbonilo o un precursor de un compuesto de carbonilo con (b) dióxido de azufre o un precursor para un dióxido de azufre y (c) agua.
- 20 4. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde el α -hidroxisulfónico se genera *in situ*.
5. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 donde la etapa (b) se realiza a una temperatura dentro del intervalo de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 150 °C y a una presión dentro del intervalo de 1 barg a aproximadamente 10 barg.
- 25 6. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde el al menos un azúcar fermentable comprende al menos una pentosa y/o al menos una hexosa.
7. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde en la etapa (b) se producen al menos una pentosa y al menos una hexosa.
- 30 8. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 que comprende adicionalmente (d) separar una corriente líquida que contiene dicho azúcar fermentable y una corriente sólida húmeda que contiene la biomasa restante del producto al que se ha retirado el ácido.
- 35 9. Un método de acuerdo con la reivindicación 8 que comprende adicionalmente (e) hidrolizar la corriente sólida húmeda produciendo de esta manera una corriente de azúcar.
- 40 10. Un método de acuerdo con la reivindicación 9 que comprende adicionalmente (f) fermentar la corriente de azúcar produciendo de esta manera productos fermentados.
11. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 que comprende adicionalmente hidrolizar y fermentar la corriente que contiene azúcar fermentable produciendo de esta manera productos fermentados.
- 45 12. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 donde el ácido α -hidroxisulfónico retirado como componentes se recicla a la etapa (b) como componentes o en su forma recombinada.
13. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 donde la biomasa está en contacto con el ácido α -hidroxisulfónico a una temperatura de 120 °C o menor.
- 50 14. Un método que comprende:
- (a) proporcionar una biomasa que contiene polisacáridos;
 (b) poner en contacto la biomasa con una solución que contiene al menos un ácido α -hidroxisulfónico, hidrolizando de esta manera la biomasa para producir al menos un producto que contiene azúcar fermentable;
 55 (c) calentar el al menos un producto que contiene azúcar fermentable hasta una temperatura de al menos 110 °C, produciendo de esta manera una corriente que contiene furfural; y
 (d) retirar el ácido α -hidroxisulfónico en su forma componente de la corriente que contiene furfural por calentamiento y/o reducción de la presión para producir un producto con ácido retirado que contiene furfural sustancialmente libre del ácido α -hidroxisulfónico; y
 60 (e) opcionalmente, reciclar el ácido α -hidroxisulfónico retirado como componentes o en su forma recombinada a la etapa (b).
15. Una composición que comprende (a) biomasa que contiene polisacáridos, (b) al menos un ácido α -hidroxisulfónico y (c) agua.
- 65

16. La composición de la reivindicación 15 que comprende adicionalmente (d) al menos un azúcar fermentable.

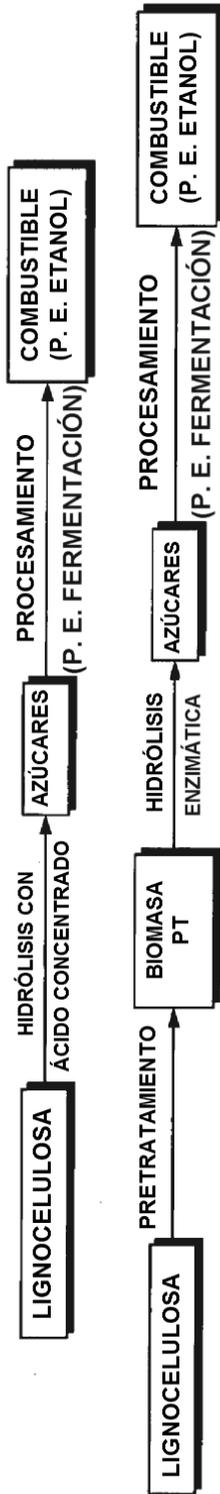


FIG. 1

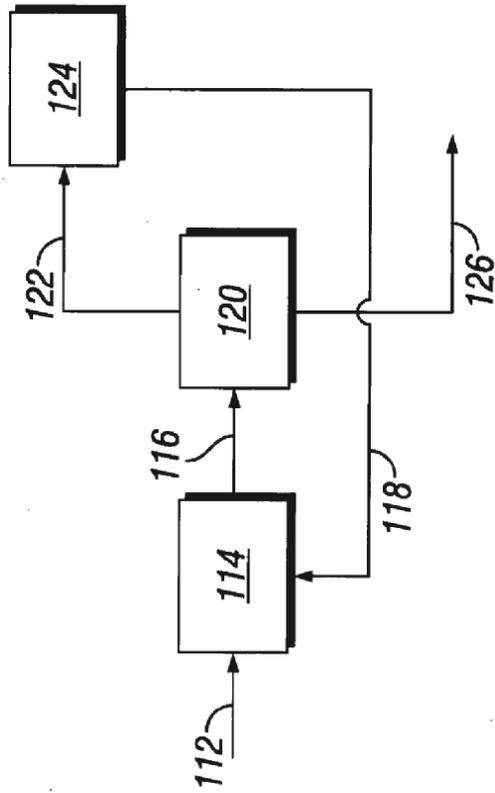


FIG. 2

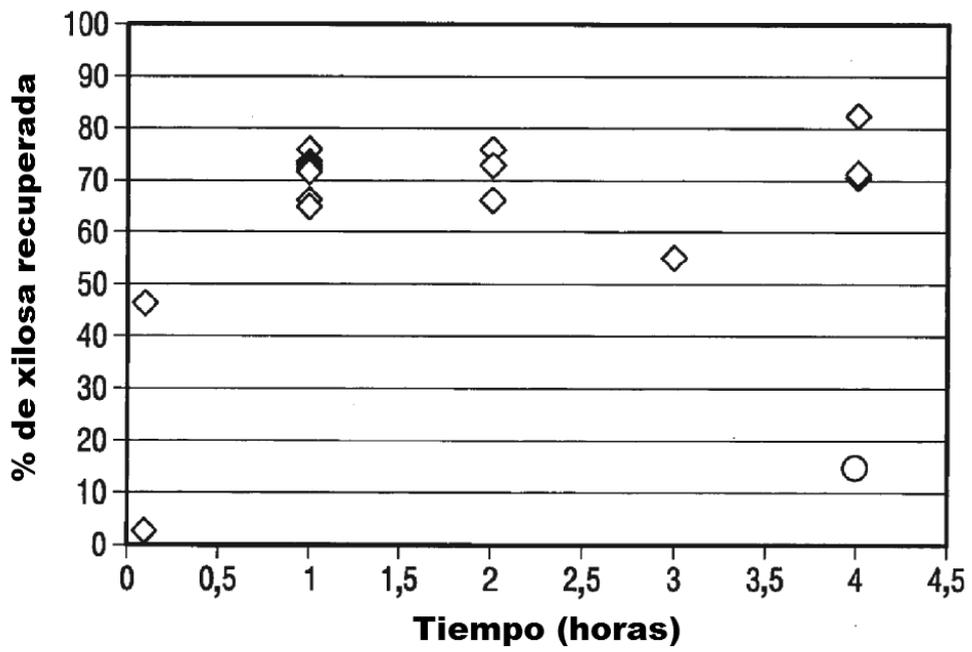
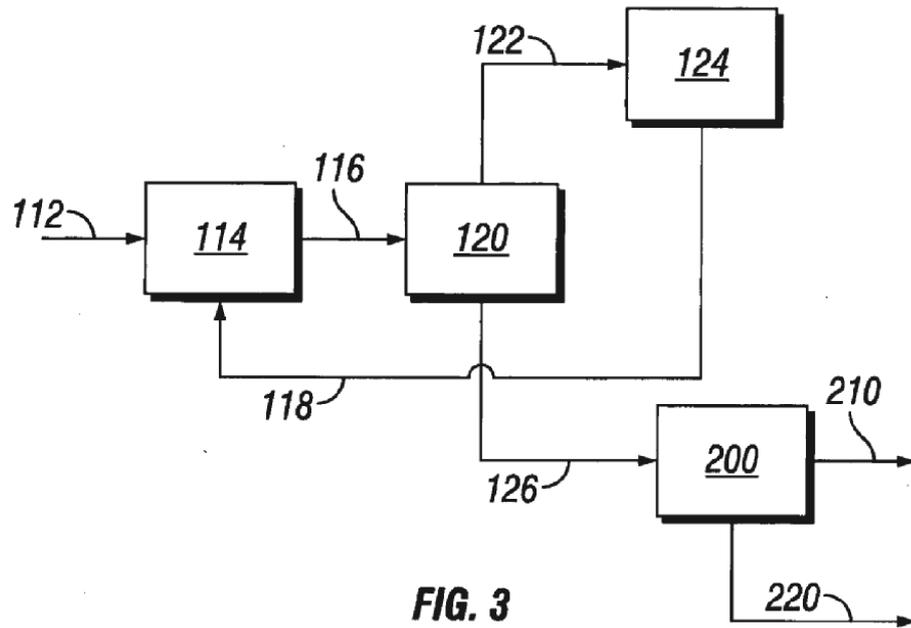


FIG. 4

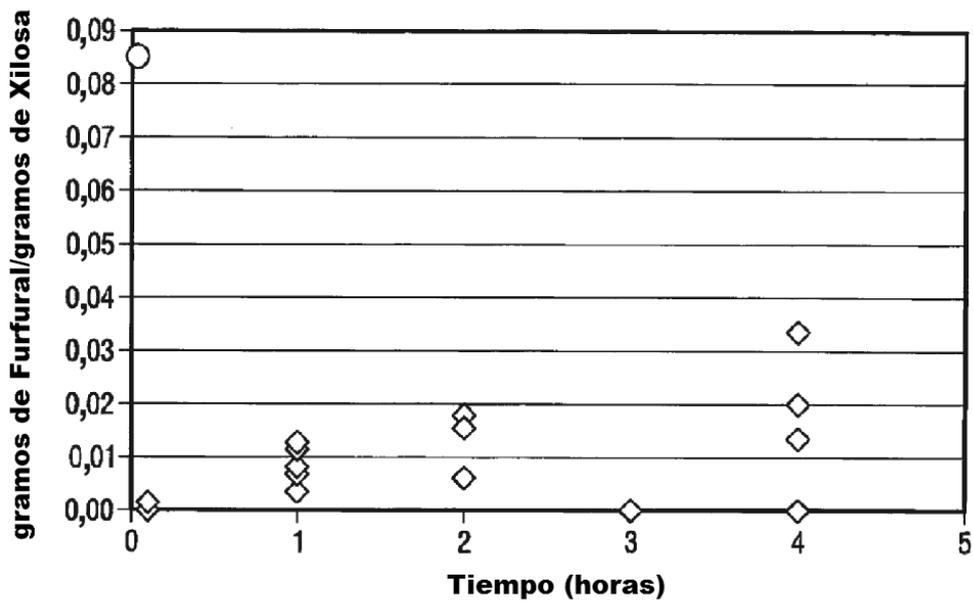


FIG. 5

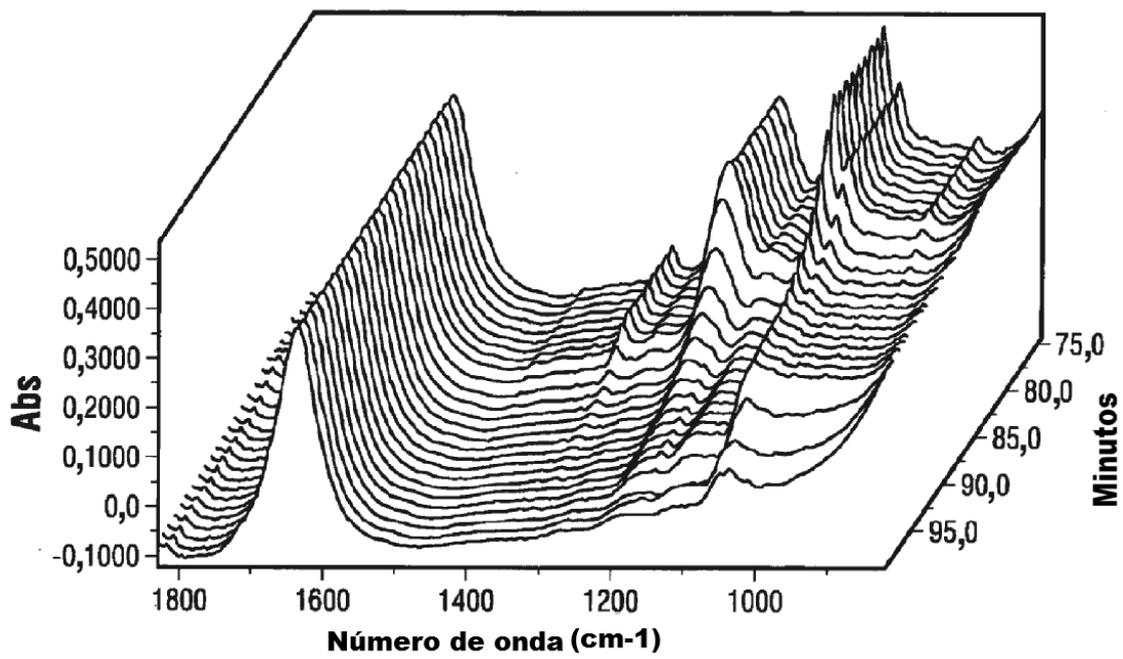


FIG. 6