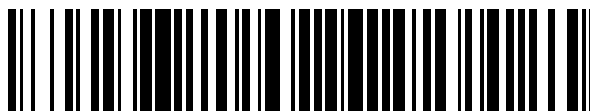


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 596 235**

51 Int. Cl.:

C12P 19/14 (2006.01)

C07G 1/00 (2011.01)

C08H 7/00 (2011.01)

C08H 8/00 (2010.01)

C08L 97/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.12.2012 PCT/JP2012/081421**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.06.2013 WO13094398**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2012 E 12859442 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2016 EP 2796561**

54 Título: **Método para producir un producto de degradación de lignina**

30 Prioridad:

20.12.2011 JP 2011278202

27.04.2012 JP 2012102972

27.11.2012 JP 2012258389

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.01.2017

73 Titular/es:

KAO CORPORATION (100.0%)

**14-10, Nihonbashi-Kayabacho, 1-chome Chuo-Ku
Tokyo 103-8210, JP**

72 Inventor/es:

YOSHIKAWA, HAYATO y

MARUNO, YUUJI

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 596 235 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para producir un producto de degradación de lignina

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un procedimiento para producir un producto de degradación de lignina que tiene un bajo grado de desnaturalización, una alta solubilidad en disolventes y una alta versatilidad.

10 **Antecedentes de la invención**

Las ligninas son polímeros aromáticos contenidos en muchas plantas incluyendo los árboles o las plantas gramíneas, y están contenidos junto con celulosas y hemicelulosas en estas plantas. Los tres componentes anteriores están presentes como lignocelulosa, en la que los componentes están unidos entre sí de manera complicada, en la pared celular de las plantas. Por tanto, no es fácil separar la lignocelulosa en estos componentes. Además, las ligninas tienen una mayor reactividad que la de las celulosas y por tanto son muy propensas a una reacción de condensación tras el calentamiento, y de transformarse finalmente en una sustancia maciza que sea inerte y tenga una escasa solubilidad en disolventes.

20 Como método de separación de ligninas del material de partida de lignocelulosa con un alto rendimiento, se conoce un método de cocción Kraft usado principalmente por las empresas de fabricación de papel (por ejemplo, véase el documento de patente 1). Además, se han realizado estudios sobre un método de desenredar celulosas y ligninas entre sí tratando la lignocelulosa con peróxido de hidrógeno como agente oxidante (por ejemplo, véase el documento de patente 2) o sumergiendo la lignocelulosa en un disolvente orgánico en condiciones de alta temperatura y alta presión (por ejemplo, véase el documento de patente 3). Además, se han realizado estudios sobre un método de retirada de polisacáridos del material de partida de lignocelulosa usando una enzima para utilizar el residuo de sacarificación enzimática resultante (por ejemplo, véase el documento de patente 4).

30 **Lista de referencias**

Bibliografía de patente

Documento de patente 1: JP 2004-190150A

35 Documento de patente 2: JP 2009-114181A

Documento de patente 3: JP 62-111700A

Documento de patente 4: JP 2011-92151A

40 **Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a los siguientes aspectos [1] y [2].

45 [1] Un procedimiento para producir un producto de degradación de lignina, que incluye las siguientes etapas (1) a (3):

etapa (1): someter un material de partida de lignocelulosa a un tratamiento de sacarificación enzimática para obtener un residuo de sacarificación;

50 etapa (2): someter el residuo de sacarificación obtenido en la etapa (1) a un tratamiento térmico en un disolvente mixto que contiene agua y un disolvente orgánico que tiene una solubilidad en agua a 20°C de no menos de 90 g/l para obtener una disolución de tratamiento térmico que contiene el producto de degradación de lignina; y

55 etapa (3): someter la disolución de tratamiento térmico obtenida en la etapa (2) a una separación sólido-líquido para retirar los componentes insolubles de la disolución de tratamiento térmico, obteniendo de ese modo el producto de degradación de lignina.

[2] Un producto de degradación de lignina producido mediante el procedimiento descrito en el aspecto [1] anterior.

60 **Descripción detallada de la invención**

65 En el método de cocción Kraft descrito en el documento de patente 1, cuando se calienta en una disolución mixta que contiene hidróxido de sodio o sulfito de sodio, la lignina tiende a sufrir una desnaturalización química significativa. Por este motivo, en el método del documento de patente 1, será difícil extraer la lignina presente en plantas como tal, lo que da como resultado la limitación de uso de lignina en aplicaciones específicas y es por tanto

indeseable desde el punto de vista de utilización eficaz de biomasa.

Además, en el método descrito en el documento de patente 2, dado que se trata una gran cantidad de peróxido de hidrógeno en una condición de alta temperatura, la lignina tiende a sufrir una desnaturalización y degradación en exceso potenciadas. Como resultado, el producto de degradación en exceso tiende a ser difícil de separar de una disolución de azúcar, y el producto de desnaturalización tiende a permanecer en pulpas.

En el método descrito en el documento de patente 3, puede ser difícil desenredar completamente la lignina, la celulosa y la hemicelulosa entre sí.

En el método descrito en el documento de patente 4, la celulosa y la hemicelulosa todavía permanecen en el componente sólido obtenido que contiene lignina, y el componente sólido es insoluble en agua o un disolvente orgánico, de manera que puede ser difícil usar la lignina como polímero aromático de alto peso molecular, y modificar y funcionalizar adicionalmente la lignina.

En consecuencia, la presente invención pretende proporcionar un procedimiento para producir un producto de degradación de lignina que tiene un bajo grado de desnaturalización, una alta solubilidad en disolventes y una alta versatilidad con un alto rendimiento.

Los presentes inventores han encontrado que cuando se somete un material de partida de lignocelulosa a una sacarificación enzimática y se trata el residuo de sacarificación resultante en condiciones específicas, es posible solucionar los problemas convencionales anteriores. La presente invención se ha efectuado por el hallazgo anterior.

Es decir, la presente invención se refiere a los siguientes aspectos [1] y [2].

[1] Un procedimiento para producir un producto de degradación de lignina, que incluye las siguientes etapas (1) a (3):

etapa (1): someter un material de partida de lignocelulosa a un tratamiento de sacarificación enzimática para obtener un residuo de sacarificación;

etapa (2): someter el residuo de sacarificación obtenido en la etapa (1) a un tratamiento térmico en un disolvente mixto que contiene agua y un disolvente orgánico que tiene una solubilidad en agua a 20°C de no menos de 90 g/l para obtener una disolución de tratamiento térmico que contiene el producto de degradación de lignina; y

etapa (3): someter la disolución de tratamiento térmico obtenida en la etapa (2) a una separación sólido-líquido para retirar los componentes insolubles de la disolución de tratamiento térmico, obteniendo de ese modo el producto de degradación de lignina.

[2] Un producto de degradación de lignina producido mediante el procedimiento descrito en el aspecto [1] anterior.

Según el procedimiento de producción de la presente invención, es posible producir un producto de degradación de lignina que tiene un bajo grado de desnaturalización y una alta solubilidad en disolventes a partir de un material de partida de lignocelulosa con un alto rendimiento. El producto de degradación de lignina obtenido mediante el procedimiento de producción de la presente invención presenta un bajo grado de desnaturalización y una alta solubilidad en disolventes y por tanto puede someterse ventajosamente a conversión en compuestos aromáticos de bajo peso molecular así como a modificación y derivatización químicas según las aplicaciones pretendidas del mismo.

[Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina]

El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según la presente invención incluye las siguientes etapas (1) a (3):

etapa (1): someter un material de partida de lignocelulosa a un tratamiento de sacarificación enzimática para obtener un residuo de sacarificación;

etapa (2): someter el residuo de sacarificación obtenido en la etapa (1) a un tratamiento térmico en un disolvente mixto que contiene agua y un disolvente orgánico que tiene una solubilidad en agua a 20°C de no menos de 90 g/l para obtener una disolución de tratamiento térmico que contiene el producto de degradación de lignina; y

etapa (3): someter la disolución de tratamiento térmico obtenida en la etapa (2) a una separación sólido-líquido para retirar los componentes insolubles de la disolución de tratamiento térmico, obteniendo de ese modo el producto de degradación de lignina.

El motivo por el cual el producto de degradación de lignina que tiene un bajo grado de desnaturalización, una alta

solubilidad en disolventes y una alta versatilidad puede producirse con un alto rendimiento según el procedimiento de producción de la presente invención, se considera el siguiente, aunque no se ha determinado claramente.

Es decir, en la etapa (1) anterior, cuando se somete el material de partida de lignocelulosa a una sacarificación enzimática, los polisacáridos contenidos en el mismo experimentan una degradación para deshacer el enredo entre la lignina y los polisacáridos, de manera que es posible obtener un residuo de sacarificación que está mejorado considerablemente en el grado de libertad de la lignina. A continuación, en la etapa (2) anterior, el residuo de sacarificación resultante se sumerge en un disolvente que tiene una alta afinidad por la lignina, de manera que la lignina se hincha y las moléculas de agua en el disolvente se infiltran incluso hasta el interior de las moléculas de la lignina. Cuando se calienta en este estado, la lignina se corta sin condensación de moléculas de lignina en condiciones relativamente moderadas en las que la lignina no es propensa a la desnaturalización, mediante lo cual es posible producir un producto de degradación de lignina que tiene una buena solubilidad en disolventes y un bajo grado de desnaturalización con un alto rendimiento.

[Etapa (1)]

En la etapa (1), el material de partida de lignocelulosa se somete a un tratamiento de sacarificación enzimática para obtener un residuo de sacarificación.

(Material de partida de lignocelulosa)

El material de partida de lignocelulosa usado en la etapa (1) significa una biomasa a base de plantas que contiene celulosa, hemicelulosa y lignina.

Ejemplos del material de partida de lignocelulosa incluyen diversas maderas en tronco tales como diversas astillas de madera obtenidas de coníferas tales como alerce japonés y cedro japonés o árboles de hoja caduca tales como palmera de aceite y ciprés japonés; pulpas tales como pulpas de madera obtenidas de madera y pulpas de linter de algodón obtenidas de fibras alrededor de las semillas de algodón; tallos, hojas y racimos de frutas vacíos de plantas tales como bagazo (residuos sometidos a presión de caña de azúcar), pajas de arroz, tallos y hojas de maíz y racimos de frutas vacíos de palmera (denominados a continuación en el presente documento meramente como "EFB"); cáscaras de plantas tales como forraje, cáscaras de palmera y cáscaras de coco; papeles tales como periódicos, cartones corrugados, revistas y papeles sin pasta de madera; y algas tales como sargazo gigante, *Laminaria digitata*, wakame, macroalga, *Gelidium amansii*, espirulina, *Dunaliella*, *Chlorella* y *Scenedesmus*. Estos materiales de partida de lignocelulosa pueden usarse solos o en combinación de dos o más cualesquiera de los mismos.

De estos materiales de partida de lignocelulosa, desde el punto de vista de mejorar un rendimiento del producto de degradación de lignina y una eficiencia de sacarificación y desde los puntos de vista de una buena disponibilidad y bajos costes para los materiales de partida, se prefieren las maderas en tronco, papeles, tallos, hojas y racimos de frutas vacíos de plantas, cáscaras de plantas y algas; se prefieren más las astillas de conífera, astillas de árbol de hoja caduca, bagazo, pajas de arroz, tallos y hojas de maíz, EFB, forraje, cáscaras de palmera, cáscaras de coco, papeles y algas; todavía se prefieren más el bagazo, EFB y astillas de madera obtenidas de tallos de palmera de aceite; y se prefiere aún todavía más el bagazo.

El contenido de lignina en el material de partida de lignocelulosa es preferiblemente no menos del 5% en masa, más preferiblemente no menos del 10% en masa, y todavía más preferiblemente no menos del 15% en masa basándose en el material de partida, desde el punto de vista de potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina. El contenido en lignina puede medirse mediante el método descrito en los ejemplos más adelante.

(Pretratamiento)

El material de partida de lignocelulosa se somete preferiblemente a pretratamiento antes de someter el material de partida de lignocelulosa al tratamiento de sacarificación enzimática desde los puntos de vista de potenciar una eficiencia de sacarificación y un rendimiento del producto de degradación de lignina y suprimir la desnaturalización de lignina. El pretratamiento preferido incluye un tratamiento de molienda y un tratamiento hidrotérmico. De estos pretratamientos, desde el punto de vista de suprimir la desnaturalización de lignina, se prefiere el tratamiento de molienda, mientras que desde los puntos de vista de acortar el tiempo de pretratamiento y potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina, se prefiere el tratamiento hidrotérmico.

(Tratamiento de molienda)

El material de partida de lignocelulosa sometido al tratamiento de molienda como pretratamiento puede formarse en partículas suficientemente pequeñas, de manera que la estructura cristalina de la celulosa contenida en el material de partida de lignocelulosa se rompe para mejorar de ese modo una eficiencia de sacarificación de la misma.

En el caso en el que el material de partida de lignocelulosa se someta al tratamiento de molienda, el contenido de

agua en el material de partida de lignocelulosa es preferiblemente de no más del 40% en masa, más preferiblemente no más del 35% en masa, todavía más preferiblemente no más del 30% en masa y aún todavía más preferiblemente no más del 20% en masa basándose en la masa seca del material de partida de lignocelulosa desde el punto de vista de mejorar una eficiencia de molienda del material de partida de lignocelulosa y un rendimiento del producto de degradación de lignina. Al mismo tiempo, es difícil ajustar el contenido de agua en el material de partida de lignocelulosa al 0% en masa. Por tanto, el contenido de agua en el material de partida de lignocelulosa es preferiblemente de 0,01 a 40% en masa, más preferiblemente de 0,1 a 35% en masa, todavía más preferiblemente de 1 a 30% en masa y aún todavía más preferiblemente de 1 a 20% en masa basándose en la masa seca del material de partida de lignocelulosa.

El contenido de agua en el material de partida de lignocelulosa puede medirse usando un instrumento Aquameter infrarrojo disponible comercialmente o similar. Más específicamente, el contenido de agua en el material de partida de lignocelulosa puede medirse mediante el método descrito en los ejemplos más adelante.

Al mismo tiempo, en el caso en el que el contenido de agua en el material de partida de lignocelulosa que va a someterse al tratamiento de molienda es más del 40% en masa, se prefiere que el material de partida de lignocelulosa se seque mediante métodos conocidos (también denominado a continuación en el presente documento "tratamiento de secado") para ajustar un contenido de agua en el mismo hasta no más del 40% en masa basándose en la masa seca del material de partida de lignocelulosa. Ejemplos del método de secado incluyen un método de secado de calentamiento por aire caliente, un método de secado de calentamiento por conducción, un método de secado por aire deshumidificado, un método de secado por aire enfriado, un método de secado por microondas, un método de secado por infrarrojos, un método de secado al sol, un método de secado al vacío, un método de secado por congelación o similar. El dispositivo de secado usado en el tratamiento de secado puede seleccionarse apropiadamente de secadores conocidos convencionalmente. El tratamiento de secado puede ser o bien un tratamiento discontinuo o bien un tratamiento continuo.

El tratamiento de molienda puede llevarse a cabo usando dispositivos de molienda conocidos convencionalmente. El dispositivo de molienda usado en el tratamiento de molienda no está limitado particularmente, y puede usarse cualquier dispositivo de molienda siempre que sea capaz de formar el material de partida de lignocelulosa en pequeñas partículas y reducir la cristalinidad de la celulosa.

Ejemplos específicos del dispositivo de molienda incluyen molino de cilindros tales como un molino de cilindros de compresión de alta presión y un molino rotatorio de cilindros; molinos de rodillos verticales tales como un molino de rodillos anular, un molino con anillo de rodadura de rodillos y un molino con anillo de rodadura de bolas; molinos con medios de accionamiento de tanque tales como un molino de bolas giratorias, un molino de bolas con vibración, un molino de barras con vibración, un molino tubular con vibración, un molino de bolas planetario y un molino con líquido centrífugo; molinos con medios de agitación tales como un molino de tipo torre, un molino con tanque de agitación, un molino con tanque de flujo y un molino anular; molinos de cizalladura consolidados tales como un molino de rodillos centrífugo de alta velocidad y un dispositivo Angmill; y un mortero, un molino de grano de piedra, un dispositivo Masscolloider, un molino de frotamiento, un molino de muelas, un molino de cuchillas, un molino de púas y un molino cortador. De estos dispositivos de molienda, desde los puntos de vista de una alta eficiencia de molienda del material de partida de lignocelulosa y una alta productividad del producto de degradación de lignina, se prefieren molinos con medios de accionamiento de tanque y molinos con medios de agitación, se prefieren más los molinos con medios de accionamiento de tanque, se prefieren todavía más los molinos con vibración tales como un molino de bolas con vibración, un molino de barras con vibración y un molino tubular con vibración, y se prefiere aún todavía más un molino de barras con vibración.

El tratamiento de molienda puede realizarse de manera o bien discontinua o bien continua. El material del aparato y/o medio usado en el tratamiento de molienda no está limitado particularmente, y se selecciona de, por ejemplo, hierro, acero inoxidable, alúmina, circonita, carburo de silicio, nitrato de silicio y vidrio. De estos materiales, se prefieren el hierro, acero inoxidable, circonita, carburo de silicio y nitrato de silicio desde el punto de vista de romper eficazmente la estructura cristalina de la celulosa, y se prefieren más el hierro y acero inoxidable desde el punto de vista del uso industrial.

Si se usa un molino con vibración con medios de barra, el diámetro externo de las barras es preferiblemente de 0,1 a 100 mm y más preferiblemente de 0,5 a 50 mm desde el punto de vista de una alta eficiencia de molienda del material de partida de lignocelulosa. Si el tamaño de las barras está dentro del intervalo anterior, el material de partida de lignocelulosa puede formarse eficazmente en partículas suficientemente pequeñas, y la celulosa está libre de contaminación debido a la inclusión de fragmentos rotos de las barras.

La tasa de llenado preferida de los medios de barra puede variar dependiendo del tipo de molino con vibración y es preferiblemente de 10 a 97%, más preferiblemente de 15 a 95% y todavía más preferiblemente de 20 a 80%. Cuando la tasa de llenado de los medios de barra está dentro de los intervalos anteriores se aumenta la frecuencia de contacto entre el material de partida de lignocelulosa y los medios de barra y no se altera el movimiento de los medios para aumentar la eficiencia de molienda. La tasa de llenado a la que se hace referencia en el presente documento es una razón del volumen aparente de medios de barra con respecto al volumen de un tanque de

agitación del molino con vibración.

La temperatura usada en el tratamiento de molienda no está limitada particularmente, y es preferiblemente de -100 a 200°C, más preferiblemente de 0 a 150°C y todavía más preferiblemente de 5 a 100°C desde el punto de vista de suprimir los costes operativos y un deterioro en la calidad del material de partida de lignocelulosa.

El tiempo del tratamiento de molienda puede determinarse apropiadamente de modo que el material de partida de lignocelulosa pueda formarse en partículas suficientemente pequeñas tras el tratamiento de molienda, y por tanto puede variar según un dispositivo de molienda y una cantidad de energía usada, etc. El tiempo del tratamiento de molienda es habitualmente de 1 min a 12 h, y preferiblemente de 2 min a 6 h, más preferiblemente de 5 min a 3 h y todavía más preferiblemente de 5 min a 2 h desde los puntos de vista de reducir un tamaño de partícula del material de partida de lignocelulosa y ahorrar costes de energía.

Además, desde el punto de vista de potenciar una eficiencia de molienda del material de partida de lignocelulosa, una eficiencia de sacarificación y una eficiencia de producción (acortar un tiempo de producción), el material de partida de lignocelulosa se somete preferiblemente al tratamiento de molienda en presencia de un compuesto básico.

(Compuesto básico)

Ejemplos del compuesto básico usado en el tratamiento de molienda incluyen hidróxidos de metales alcalinos tales como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de litio; hidróxidos de metales alcalinotérreos tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de calcio; óxidos de metales alcalinos tales como óxido de sodio y óxido de potasio; óxidos de metales alcalinotérreos tales como óxido de magnesio y óxido de calcio; sulfuros de metales alcalinos tales como sulfuro de sodio y sulfuro de potasio; y sulfuros de metales alcalinotérreos tales como sulfuro de magnesio y sulfuro de calcio. De estos compuestos básicos, desde el punto de vista de potenciar una tasa de sacarificación enzimática, se prefieren los hidróxidos de metales alcalinos o hidróxidos de metales alcalinotérreos, se prefieren más los hidróxidos de metales alcalinos, y se prefiere todavía más el hidróxido de sodio o hidróxido de potasio. Estos compuestos básicos pueden usarse solos o en combinación de dos o más cualesquiera de los mismos.

La cantidad del compuesto básico usado en el tratamiento de molienda es preferiblemente de 0,01 a 10 mol, más preferiblemente de 0,05 a 8 mol, todavía más preferiblemente de 0,1 a 5 mol y aún todavía más preferiblemente de 0,1 a 1,5 mol por 1 mol de una unidad de anhidroglucosa que constituye la celulosa (también denominada a continuación en el presente documento meramente como "AGU") asumiendo que todas las holocelulosas en el material de partida de lignocelulosa son celulosas. Cuando la cantidad del compuesto básico usado es de 0,01 moles o más por 1 mol de AGU, es posible potenciar una eficiencia de sacarificación en la etapa (2) mencionada más adelante. Además, la cantidad del compuesto básico usado es preferiblemente de 10 mol o menos por 1 mol de AGU desde los puntos de vista de una buena neutralización y/o una capacidad de limpieza facilitada del compuesto básico así como bajos costes del compuesto básico.

Cuando se somete el material de partida de lignocelulosa a un tratamiento de molienda en presencia del compuesto básico, el contenido en agua tras el tratamiento de molienda es preferiblemente de 0,1 a 40% en masa, más preferiblemente de 0,5 a 35% en masa, todavía más preferiblemente de 1 a 30% en masa, aún todavía más preferiblemente de 1 a 25% en masa, y aún todavía más preferiblemente de 2 a 20% en masa basándose en la masa seca del material de partida de lignocelulosa. Cuando el contenido en agua tras el tratamiento de molienda se encuentra dentro del intervalo especificado anteriormente, es posible potenciar una eficiencia de molienda del material de partida de lignocelulosa, y mejorar el mezclado, la penetración y la difusión entre el material de partida de lignocelulosa y el compuesto básico, de manera que se permita que el tratamiento de sacarificación de la etapa (1) avance de manera eficiente

El contenido en agua tras el tratamiento de molienda tal como se usa en el presente documento significa un contenido de agua en el material de partida de celulosa basado en la masa seca del mismo, y puede controlarse apropiadamente reduciendo una cantidad de agua contenida en el material de partida de celulosa y el compuesto básico secando estos materiales o añadiendo agua tras el tratamiento de molienda para aumentar una cantidad de agua presente en los materiales.

El tamaño de partícula promedio del material de partida de lignocelulosa obtenido tras someter al tratamiento de molienda es preferiblemente de 1 a 150 μm y más preferiblemente de 5 a 100 μm desde los puntos de vista de potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina y una eficiencia de sacarificación. Al mismo tiempo, el tamaño de partícula promedio del material de partida de lignocelulosa obtenido tras someter al tratamiento de molienda puede medirse mediante el método descrito en los ejemplos más adelante.

La cristalinidad de tipo celulosa I del material de partida de lignocelulosa obtenido tras someter al tratamiento de molienda es preferiblemente de 0 a 40%, más preferiblemente de 0 a 30%, todavía más preferiblemente de 0 a 20% y aún todavía más preferiblemente de 0 a 10% desde los puntos de vista de potenciar un rendimiento del producto

de degradación de lignina y una eficiencia de sacarificación. Al mismo tiempo, la cristalinidad de tipo celulosa I del material de partida de lignocelulosa obtenido tras someter al tratamiento de molienda puede medirse mediante el método descrito en los ejemplos más adelante.

5 (Tratamiento hidrotérmico)

El tratamiento hidrotérmico es un tratamiento tal en el que una disolución acuosa a alta temperatura actúa sobre el material de partida de lignocelulosa en condiciones a presión. El tratamiento hidrotérmico puede realizarse usando un aparato de reacción conocido, y el aparato de reacción usado en el tratamiento hidrotérmico no está limitado particularmente. En el tratamiento hidrotérmico, el material de partida de lignocelulosa se usa preferiblemente en forma de una suspensión. Desde el punto de vista de potenciar una eficiencia de sacarificación, el tratamiento hidrotérmico del material de partida de lignocelulosa se realiza preferiblemente tras someter el material de partida de lignocelulosa a una pulverización gruesa. El contenido del material de partida de lignocelulosa en la suspensión es preferiblemente de 1 a 500 g/l, más preferiblemente de 1 a 200 g/l, todavía más preferiblemente de 5 a 150 g/l y aún todavía más preferiblemente de 8 a 100 g/l desde el punto de vista de potenciar una fluidez de la suspensión. La suspensión puede contener agua, diversas disoluciones tampón, etc., como medio de la misma.

El tratamiento hidrotérmico del material de partida de lignocelulosa se lleva a cabo preferiblemente en un estado ácido desde el punto de vista de potenciar una eficiencia de producción y una eficiencia de sacarificación. El valor de pH de la suspensión es preferiblemente de 3 a 7 y más preferiblemente de 4 a 6 desde los puntos de vista de potenciar una eficiencia de producción y una eficiencia de sacarificación, y suprimir la desnaturalización de lignina. Además, desde el punto de vista de potenciar adicionalmente una eficiencia de producción y una eficiencia de sacarificación, el valor de pH de la suspensión es preferiblemente de 1,5 a 3. El valor de pH de la suspensión puede controlarse apropiadamente usando un ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico, o un ácido orgánico tal como ácido acético y ácido cítrico.

El tratamiento hidrotérmico se realiza preferiblemente a una temperatura de 100 a 400°C.

La temperatura de reacción en el tratamiento hidrotérmico preferiblemente no es menor de 100°C, más preferiblemente no es menor de 120°C, todavía más preferiblemente no es menor de 130°C y aún todavía más preferiblemente no es menor de 140°C, y preferiblemente tampoco es mayor de 400°C, más preferiblemente tampoco es mayor de 300°C, todavía más preferiblemente tampoco es mayor de 220°C y aún todavía más preferiblemente tampoco es mayor de 200°C desde el punto de vista de potenciar una eficiencia de producción y una eficiencia de sacarificación de la celulosa. Más específicamente, la temperatura de reacción en el tratamiento hidrotérmico es preferiblemente de 100 a 400°C, más preferiblemente de 120 a 300°C, todavía más preferiblemente de 130 a 220°C y aún todavía más preferiblemente de 140 a 200°C desde el punto de vista de potenciar una eficiencia de producción y una eficiencia de sacarificación de la celulosa.

La presión de reacción en el tratamiento hidrotérmico es preferiblemente de no menos de 0 MPa, más preferiblemente de no menos de 0,01 MPa, todavía más preferiblemente de no menos de 0,1 MPa y aún todavía más preferiblemente de no menos de 0,5 MPa, y preferiblemente tampoco es más de 50 MPa, más preferiblemente tampoco es más de 40 MPa y todavía más preferiblemente tampoco es más de 20 MPa desde el punto de vista de potenciar una eficiencia de producción y una eficiencia de sacarificación de la celulosa. Más específicamente, la presión de reacción en el tratamiento hidrotérmico es preferiblemente de 0 a 50 MPa, más preferiblemente de 0,01 a 40 MPa, todavía más preferiblemente de 0,1 a 20 MPa y aún todavía más preferiblemente de 0,5 a 20 MPa desde el punto de vista de potenciar una eficiencia de producción y una eficiencia de sacarificación de la celulosa.

El tiempo de reacción del tratamiento hidrotérmico es preferiblemente de no menos de 0,0001 h y preferiblemente tampoco es más de 24 h, más preferiblemente tampoco es más de 18 h y todavía más preferiblemente tampoco es más de 12 h desde los puntos de vista de potenciar una eficiencia de producción y una eficiencia de sacarificación de la celulosa y suprimir la desnaturalización de lignina. Más específicamente, el tiempo de reacción del tratamiento hidrotérmico es preferiblemente de 0,0001 a 24 h, más preferiblemente de 0,005 a 18 h, todavía más preferiblemente de 0,01 a 12 h, aún todavía más preferiblemente de 0,02 a 6 h, aún todavía más preferiblemente de 0,02 a 3 h y aún todavía más preferiblemente de 0,02 a 1 h desde el punto de vista de potenciar una eficiencia de producción y una eficiencia de sacarificación de la celulosa.

El tratamiento hidrotérmico puede realizarse de una manera o bien discontinua o bien continua.

Al mismo tiempo, el material de partida de lignocelulosa obtenido mediante el tratamiento hidrotérmico puede estar en un estado húmedo o puede ser un producto seco obtenido sometiendo adicionalmente el material húmedo a un tratamiento de secado. Desde el punto de vista de potenciar una eficiencia de sacarificación, el material de partida de lignocelulosa está preferiblemente en un estado húmedo.

(Tratamiento de sacarificación)

Como enzima usada en el tratamiento de sacarificación de la etapa (1), pueden mencionarse la celulasa y la

hemicelulasa desde los puntos de vista de mejorar una eficiencia de sacarificación y un rendimiento de un producto de degradación de lignina y suprimir la desnaturalización de lignina.

Estas enzimas pueden usarse solas o en combinación de dos o más cualesquiera de las mismas.

La celulasa significa una enzima capaz de hidrolizar un enlace glicosídico de β -1,4-glucano en celulosa, y es un nombre genérico de enzimas denominadas endoglucanasa, exoglucanasa o celobiohidrolasa, β -glucosidasa y similares. Como celulasa usada en la presente invención, pueden mencionarse las preparaciones de celulasa disponibles comercialmente, y celulasas derivadas de animales, plantas y microorganismos.

Ejemplos específicos de la celulasa incluyen preparaciones de celulasa derivadas de *Trichoderma reesei*, tal como "CELLUCLUST 1.5L" (nombre comercial) disponible de Novozymes y "CellicCTec2" (nombre comercial) disponible de Novozymes; celulasas derivadas de cepas de *Bacillus sp.* KSM-N145 (FERM P-19727); celulasas derivadas de las respectivas cepas de *Bacillus sp.* KSM-N252 (FERM P-17474), *Bacillus sp.* KSM-N115 (FERM P-19726), *Bacillus sp.* KSM-N440 (FERM P-19728), *Bacillus sp.* KSM-N659 (FERM P-19730) y similares; mezclas de celulasas derivadas de *Trichoderma viride*, *Aspergillus aculeatus*, *Clostridium thermocellum*, *Clostridium stercorarium*, *Clostridium josui*, *Cellulomonas fimi*, *Acremonium cellulositricus*, *Irpex lacteus*, *Aspergillus niger* y *Humicola insolens*; y celulasas resistentes al calor derivadas de *Pyrococcus horikoshii*.

De estas enzimas, desde el punto de vista de mejorar una eficiencia de sacarificación y un rendimiento del producto de degradación de lignina, se prefieren las celulasas derivadas de *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride* o *Humicola insolens*, por ejemplo, "CELLUCLUST 1.5L" (nombre comercial) disponible de Novozymes, "TP-60" (nombre comercial) disponible de Meiji Seika Pharma Co., Ltd., "CellicCTec2" (nombre comercial) disponible de Novozymes, "Accellerase DUET" (nombre comercial) disponible de Genencor y "Ultraflo L" (nombre comercial) disponible de Novozymes.

Ejemplos específicos de la β -glucosidasa como una clase de celulasa incluyen enzimas derivadas de *Aspergillus niger* (por ejemplo, tal como "Novozyme 188" (nombre comercial) disponible de Novozymes y β -glucosidasa disponible de Megazyme), y enzimas derivadas de *Trichoderma reesei* y *Penicillium emersonii*.

Ejemplos específicos de la hemicelulasa incluyen preparaciones de hemicelulasa derivadas de *Trichoderma reesei* tal como "CellicHTec2" (nombre comercial) disponible de Novozymes, así como xilanasas derivadas de *Bacillus sp.* KSMN546 (FERM P-19729), xilanasas derivadas de *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, *Humicola insolens* y *Bacillus alcalophilus*, y xilanasas derivadas de *Thermomyces*, *Aureobasidium*, *Streptomyces*, *Clostridium*, *Thermotoga*, *Thermoascus*, *Caldocellum* y *Thermomonospora*.

La enzima usada en la etapa (1) es preferiblemente al menos una enzima seleccionada del grupo constituido por las celulasas y hemicelulasas mencionadas anteriormente, más preferiblemente al menos una enzima seleccionada del grupo constituido por celobiohidrolasa, β -glucosidasa, endoglucanasa y hemicelulasa, y todavía más preferiblemente al menos una enzima seleccionada del grupo constituido por celobiohidrolasa y endoglucanasa.

Las condiciones de tratamiento usadas cuando se somete el material de partida de lignocelulosa a un tratamiento de sacarificación enzimática en la etapa (1) pueden seleccionarse apropiadamente según el contenido y la cristalinidad de tipo celulosa I de lignina en el material de partida de lignocelulosa y la clase de enzima usada.

Por ejemplo, en el caso en el que la enzima mencionada anteriormente se usa junto con el material de partida de lignocelulosa como sustrato, la enzima anterior se añade en una cantidad de 0,001 a 15% (v/v) basándose en una suspensión que contiene el sustrato en una cantidad de 0,5 a 20% (p/v), y se permite que reaccione con el mismo en una disolución tampón que tiene un valor de pH de 2 a 10 a una temperatura de 10 a 90°C durante un tiempo de reacción de 30 min a 5 días para someter el material de partida de lignocelulosa a un tratamiento de sacarificación.

El valor de pH de la disolución tampón puede determinarse apropiadamente según la clase de enzima usada, y es preferiblemente de 3 a 7 y más preferiblemente de 4 a 6.

La temperatura de reacción también puede determinarse apropiadamente según la clase de enzima usada, y es preferiblemente de 20 a 70°C y más preferiblemente de 40 a 60°C.

Adicionalmente, el tiempo de reacción también puede determinarse apropiadamente según la clase de enzima usada, y es preferiblemente de 0,5 a 3 días y más preferiblemente de 0,5 a 2 días.

(Residuo de sacarificación)

El material de partida de lignocelulosa se somete a un tratamiento de sacarificación con la enzima para obtener un residuo de sacarificación. El término "residuo de sacarificación" tal como se usa en el presente documento significa un componente sólido separado de una mezcla obtenida tras el tratamiento de sacarificación enzimática mediante

un método de separación sólido-líquido tal como separación centrífuga. El componente sólido se lava con agua varias veces para separar polisacáridos solubles en agua del mismo. Después de esto, el residuo de sacarificación puede someterse a la etapa (2) mientras se mantiene en un estado húmedo, o puede secarse para convertirse en polvo el residuo. Desde el punto de vista de mejorar una eficiencia de producción, se prefiere que el residuo de sacarificación se someta a la etapa (2) mientras se mantiene en un estado húmedo. Además, cuando se somete al tratamiento de secado, el residuo de sacarificación preferiblemente se seca a una temperatura de 100°C o menor, o más preferiblemente se liofiliza, desde el punto de vista de suprimir la desnaturalización de lignina.

[Etapa (2)]

En la etapa (2), el residuo de sacarificación anterior se somete a un tratamiento térmico en un disolvente mixto que contiene agua y un disolvente orgánico que tiene una solubilidad en agua a 20°C (también denominada a continuación en el presente documento meramente como solubilidad) de no menos de 90 g/l, obteniendo de ese modo una disolución de tratamiento térmico que contiene un producto de degradación de lignina.

(Disolvente orgánico)

El disolvente orgánico usado junto con agua en la etapa (2) tiene una solubilidad en agua a 20°C de no menos de 90 g/l, preferiblemente de no menos de 100 g/l y todavía más preferiblemente de no menos de 120 g/l desde los puntos de vista de separar fácilmente la lignina de la celulosa y la hemicelulosa contenidas en el residuo de sacarificación (denominada también a continuación en el presente documento meramente como "capacidad de separación de lignina") y mejorar una eficiencia de extracción del producto de degradación de lignina. Usando el disolvente orgánico que tiene una solubilidad en agua a 20°C de no menos de 90 g/l, es posible potenciar una afinidad entre el disolvente mixto y lignina y desenredar fácilmente la lignina de la celulosa y la hemicelulosa de manera que puede potenciarse una eficiencia de extracción del producto de degradación de lignina.

Desde el punto de vista de mejorar una capacidad de separación de lignina y una eficiencia de extracción del producto de degradación de lignina, el disolvente orgánico es preferiblemente al menos un compuesto seleccionado del grupo constituido por alcoholes, nitrilos, éteres y cetonas.

Desde el punto de vista de mejorar una eficiencia de extracción del producto de degradación de lignina, el disolvente orgánico preferiblemente tiene un valor SP de 8 a 23, más preferiblemente de 8 a 16 y todavía más preferiblemente de 9 a 13.

El término "valor SP" tal como se usa en el presente documento significa un parámetro de solubilidad. El parámetro de solubilidad se expresa mediante el valor δ [(cal/cm³)^{1/2}] determinado basándose en la siguiente fórmula de Fedors mediante un método de Fedors [Robert F. Fedors, "Polymer Engineering and Science", 14, 147-154 (1974)], valor que se calcula a partir de una raíz cuadrada de una razón de una suma (Δe_i) de energías de evaporación de átomos o grupos atómicos en una estructura química de un compuesto con respecto a una suma (Δv_i) de volúmenes molares de los mismos.

$$\text{Fórmula de Fedors: } \delta = \left(\frac{\sum \Delta e_i}{\sum \Delta v_i} \right)^{1/2}$$

Ejemplos específicos del disolvente orgánico son los siguientes.

Ejemplos específicos de los alcoholes incluyen metanol, etanol, dietilenglicol, n-propanol, isopropanol, 2-butanol, isobutanol y alcohol t-butílico.

Ejemplos específicos de los nitrilos incluyen acetonitrilo y similares.

Ejemplos específicos de los éteres incluyen dioxano y similares.

Ejemplos específicos de las cetonas incluyen acetona y metil etil cetona.

Los disolventes orgánicos ilustrados anteriormente tienen todos una solubilidad en agua a 20°C de no menos de 90 g/l. Estos disolventes orgánicos pueden usarse solos o en combinación de dos o más cualesquiera de los mismos.

De estos disolventes orgánicos, desde los puntos de vista de mejorar una capacidad de separación de lignina y una eficiencia de extracción del producto de degradación de lignina, y obtener una buena seguridad, se prefiere al menos un compuesto seleccionado del grupo constituido por etanol, isopropanol, acetonitrilo, dioxano, acetona y metil etil cetona; se prefieren más etanol, isopropanol y acetona; y se prefiere todavía más la acetona.

La razón (razón molar) de disolvente orgánico con respecto a agua en el disolvente mixto usado en la etapa (2)

[disolvente orgánico/agua] (razón en masa) es preferiblemente de 90/10 a 10/90, más preferiblemente de 70/30 a 30/70 y todavía más preferiblemente de 60/40 a 40/60 desde el punto de vista de mejorar una capacidad de separación de lignina y una eficiencia de extracción del producto de degradación de lignina.

- 5 Además, el disolvente mixto anterior contiene además preferiblemente un ácido o una base desde los puntos de vista de potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina y controlar bien un peso molecular del producto de degradación de lignina.

10 Ejemplos del ácido usado en el disolvente mixto incluyen ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y ácido bórico; ácidos orgánicos tales como ácido p-toluenosulfónico (PTSA), ácido trifluoroacético, ácido tricloroacético, ácido fórmico, ácido acético y ácido cítrico; ácidos de Lewis tales como cloruro de aluminio y triflatos de metal; ácidos grasos tales como ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico y ácido linoleico; y heteropoliácidos. De estos ácidos, desde los puntos de vista de potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina y
15 obtener el producto de degradación de lignina de bajo peso molecular, se prefiere al menos un ácido seleccionado del grupo constituido por ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, PTSA y cloruro de aluminio.

Ejemplos de la base usada en el disolvente mixto incluyen hidróxidos de metales alcalinos tales como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de litio; hidróxidos de metales alcalinotérreos tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de calcio; óxidos de metales alcalinos tales como óxido de sodio y óxido de potasio; óxidos de metales alcalinotérreos tales como óxido de magnesio y óxido de calcio; sulfuros de metales alcalinos tales como sulfuro de sodio y sulfuro de potasio; y sulfuros de metales alcalinotérreos tales como sulfuro de magnesio y sulfuro de calcio. De estas bases, desde los puntos de vista de potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina y obtener el producto de degradación de lignina de alto peso molecular, se prefiere al menos una base
20 seleccionada del grupo constituido por hidróxidos de metales alcalinos e hidróxidos de metales alcalinotérreos, se prefiere más al menos una base seleccionada del grupo constituido por hidróxidos de metales alcalinos, y se prefiere todavía más al menos una base seleccionada del grupo constituido por hidróxido de sodio e hidróxido de potasio.

Al mismo tiempo, los ácidos o las bases anteriores pueden usarse respectivamente solos o en combinación de dos o
30 más cualesquiera de los mismos.

Además, el disolvente mixto anterior contiene además preferiblemente un eliminador de radicales desde el punto de vista de potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina.

- 35 Como eliminador de radicales usado en el disolvente mixto, pueden mencionarse eliminadores de radicales aromáticos, eliminadores de radicales a base de amina, eliminadores de radicales a base de radicales libres estabilizados, eliminadores de radicales a base de ácidos orgánicos, eliminadores de radicales a base de catequina e hidrógeno molecular.

40 Ejemplos de los eliminadores de radicales aromáticos incluyen hidroquinona, benzoquinona, metoquinona (monometiléter de hidroquinona), fenol, catecol, pirogalol, 1,2,4-trihidroxibenceno, florigrucinol, resorcinol, homocatecol, p-cresol, 2-metoxifenol, 2,4-dimetilfenol, 2,6-dimetilfenol, 2,6-dimetoxifenol, 2-terc-butil-4-metilfenol, 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol, 4-hidroximetil-2,6-di-terc-butilfenol, 2,6-di-terc-butil-4-etilfenol, butilhidroxianisol, propionato de n-octadecil-3-(4-hidroxil-3,5-di-terc-butilfenilo), malonato de diestearil-(4-hidroxil-3-metil-5-terc-butil)encilo, galato de propilo, galato de octilo, galato de dodecilo, tocoferol, 2,2'-metilenobis(4-metil-6-terc-butilfenol), 2,2'-metilenobis(4-etil-6-terc-butilfenol), 4,4'-metilenobis(2,6-di-terc-butilfenol), 4,4'-butilidenobis(6-terc-butil-m-cresol), 4,4'-tiobis(6-terc-butil-m-cresol), fenol estirenado, N,N'-hexametenobis(3,5-di-terc-butil-4-hidroxi-4-hidroxihidrocinnamida), bis(éster etílico del ácido 3,5-di-terc-butil-4-hidroxibencilfosfónico)calcio, 1,1,3-tris(2-metil-4-hidroxi-5-terc-butilfenil)butano, 1,3,5-trimetil-2,4,6-tris(3,5-di-terc-butil-4-hidroxibencil)benceno, 1,6-hexanodiol/bis[propionato de 3-(3,5-di-terc-butil-4-hidroxifenilo)], 2,2'-metilenobis(4-metil-6-ciclohexilfenol), 2,2'-metilenobis[6-(1-metilciclohexil-p-cresol)], ácido 1,3,5-tris(4-terc-butil-3-hidroxil-2,6-dimetilbencil)isocianúrico, ácido 1,3,5-tris(3,5-di-terc-butil-4-hidroxibencil)isocianúrico, trietilenglicol/bis[propionato de 3-(3-terc-butil-4-hidroxil-5-metilfenilo)], 2,2'-oxaamida[propionato de etilo/3-(3,5-di-terc-butil-4-hidroxifenilo)], 6-(4-hidroxil-3,5-di-terc-butilanilino)-2,4-dioctilto-1,3,5-triazina, tereftalato de bis[2-terc-butil-4-metil-6-(2-hidroxil-3-terc-butil-5-metilbencil)fenilo], 3,9-bis[2-[3-(3-terc-butil-4-hidroxil-5-metilfenil)propioniloxi]-1,1-dimetiletil]-2,4,8,10-tetraoxaspiro[5.5]undecano y 3,9-bis[2-[3-(3,5-di-terc-butil-4-hidroxifenil)propioniloxi]-1,1-dimetiletil]-2,4,8,10-tetraoxaaspiro[5.5]undecano.

Ejemplos del eliminador de radicales a base de amina incluyen tributilamina, difenilamina, fenotiazina y fenil- α -naftilamina.
60

Ejemplos del eliminador de radicales a base de radicales libres estabilizados incluyen 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oxilo y similares.

Ejemplos del eliminador de radicales a base de ácido orgánico incluyen ácido L-ascórbico, ácido eritórlico, α -tocoferol y ácido clorogénico.
65

Ejemplos del eliminador de radicales a base de catequina incluyen (+)-catequina, epicatequina, epigallocatequina, galato de epigallocatequina y galato de epigallocatequina.

De estos eliminadores de radicales, desde el punto de vista de potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina, se prefiere al menos un eliminador de radicales seleccionado del grupo constituido por eliminadores de radicales aromáticos, eliminadores de radicales a base de amina, eliminadores de radicales a base de ácidos orgánicos, eliminadores de radicales a base de catequina e hidrógeno molecular, se prefiere más al menos un eliminador de radicales seleccionado del grupo constituido por eliminadores de radicales aromáticos y eliminadores de radicales a base de ácidos orgánicos y todavía se prefieren más los eliminadores de radicales aromáticos.

Más específicamente, como eliminadores de radicales aromáticos, se prefiere al menos un eliminador de radicales seleccionado del grupo constituido por hidroquinona, benzoquinona, metoquinona (monometiléter de hidroquinona), fenol, catecol, pirogalol, 1,2,4-trihidroxibenceno, florogruinol, resorcinol, homocatecol, p-cresol, 2-metoxifenol, 2,4-dimetilfenol, 2,6-dimetilfenol, 2,6-dimetoxifenol, 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol y butilhidroxianisol, se prefiere más al menos un eliminador de radicales seleccionado del grupo constituido por hidroquinona, benzoquinona, metoquinona (monometil éter de hidroquinona), fenol, catecol, pirogalol, 1,2,4-trihidroxibenceno, florogruinol, p-cresol, 2-metoxifenol y 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol, y se prefiere todavía más al menos un eliminador de radicales seleccionado del grupo constituido por hidroquinona, benzoquinona, metoquinona (monometil éter de hidroquinona) y fenol.

La cantidad del disolvente mixto usada en la etapa (2) es de 2 a 40 veces, más preferiblemente de 2 a 30 veces, todavía más preferiblemente de 3 a 30 veces y aún todavía más preferiblemente de 5 a 30 veces la masa de un componente sólido del residuo de sacarificación desde el punto de vista de potenciar a productividad y una degradabilidad de lignina.

El contenido del ácido o de la base en el disolvente mixto usado en la etapa (2) es preferiblemente de 0,001 a 1,0% en masa y más preferiblemente de 0,01 hasta el 0,5% en masa basándose en el disolvente mixto desde los puntos de vista de potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina y controlar bien un peso molecular del producto de degradación de lignina producido.

El contenido del eliminador de radicales en el disolvente mixto es preferiblemente de 5 a 1000% en moles, más preferiblemente de 6 a 500% en moles, todavía más preferiblemente de 8 a 200% en moles y aún todavía más preferiblemente de 10 a 100% en moles basándose en el número de moles de la lignina en el residuo de sacarificación usado en la etapa (2). El número de moles de lignina en el residuo de sacarificación es el valor obtenido dividiendo el contenido de lignina en el residuo de sacarificación entre 180,22 como peso molecular del alcohol coniferílico asumiendo que un monómero constitutivo de lignina es el alcohol coniferílico.

La temperatura del tratamiento térmico en la etapa (2) es preferiblemente de 40 a 300°C, más preferiblemente de 80 a 280°C, todavía más preferiblemente de 100 a 250°C y aún todavía más preferiblemente de 120 a 200°C desde los puntos de vista de suprimir la desnaturalización de lignina y potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina.

El dispositivo de calentamiento usado en la etapa (2) es preferiblemente un autoclave o un calentador de microondas desde los puntos de vista de suprimir la desnaturalización de lignina y potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina.

La presión de reacción tras el tratamiento térmico en la etapa (2) es preferiblemente de 0,1 a 30 MPa, más preferiblemente de 0,1 a 20 MPa y todavía más preferiblemente de 0,1 a 15 MPa desde los puntos de vista de suprimir la desnaturalización de lignina y potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina.

El tiempo del tratamiento térmico en la etapa (2) no está limitado particularmente y puede determinarse apropiadamente según la cantidad del residuo de sacarificación producido, y es preferiblemente de 1 min a 5 h, más preferiblemente de 1 min a 3 h y todavía más preferiblemente de 2 min a 2 h desde los puntos de vista de suprimir la desnaturalización de lignina y potenciar un rendimiento del producto de degradación de lignina.

(Etapa (3))

En la etapa (3), la disolución de tratamiento térmico que contiene el producto de degradación de lignina obtenido en la etapa (2) se somete a una separación sólido-líquido para retirar los componentes insolubles de la misma, obteniendo de ese modo el producto de degradación de lignina.

El método de obtención del producto de degradación de lignina no está limitado particularmente siempre que el método incluya al menos una etapa de someter la disolución de tratamiento térmico obtenida en la etapa (2) a una separación sólido-líquido para retirar los componentes insolubles de la misma y obtener el producto de degradación de lignina contenido en un componente líquido así separado. Como método de obtención del producto de

degradación de lignina, pueden mencionarse la separación sólido-líquido tal como la filtración y la separación centrífuga, que pueden usarse apropiadamente en combinación con diversas etapas tales como la retirada de disolventes mediante destilación, lavado y secado. Además, si el ácido o la base se añade en la etapa (2) anterior, la etapa (3) también puede incluir una etapa de neutralización. Estas etapas pueden realizarse mediante métodos habituales. Por ejemplo, puede usarse un método tal, en el que la disolución de tratamiento térmico obtenida en la etapa (2) se somete a una separación sólido-líquido para retirar los componentes insolubles de la misma, y tras retirar el disolvente orgánico y el agua contenidos en el componente líquido mediante destilación a presión reducida, el residuo resultante se lavó con agua para obtener el producto de degradación de lignina. Al lavar el residuo obtenido tras la retirada del disolvente mediante destilación con agua, es posible retirar los polisacáridos solubles en agua o similares, de manera que pueden potenciarse la pureza de lignina en el producto de degradación de lignina.

[Producto de degradación de lignina]

El producto de degradación de lignina obtenido mediante el procedimiento de producción de la presente invención tiene un bajo grado de desnaturalización y una buena solubilidad en disolventes, y por tanto puede usarse eficazmente como material capaz de convertirse en compuestos aromáticos de bajo peso molecular tales como vainillina, siringaldehído, p-hidroxibenzaldehído, ácido vanílico, ácido siríngico y ácido 4-hidroxibenzoico. Además, el producto de degradación de lignina puede usarse directamente como agente antibacteriano, producto químico para la agricultura, y una resina termoendurecible, un dispersante de cemento, un dispersante para baterías secundarias, aditivos para perfumes y cosméticos, y otros materiales funcionales.

El peso molecular promedio en peso del producto de degradación de lignina obtenido mediante el procedimiento de producción de la presente invención está, por ejemplo, en el intervalo de 2.000 a 40.000, y puede seleccionarse apropiadamente según las aplicaciones del producto de degradación de lignina.

La tasa de rendimiento de aldehído como índice de un grado de desnaturalización del producto de degradación de lignina obtenido mediante el procedimiento de producción de la presente invención es preferiblemente de no menos del 10%, más preferiblemente de no menos del 12,5%, todavía más preferiblemente de no menos del 15% y aún todavía más preferiblemente de no menos del 20% desde el punto de vista de conversión en compuestos aromáticos de bajo peso molecular. Al mismo tiempo, la tasa de rendimiento de aldehído es el valor medido mediante un método de oxidación de nitrobenzoceno alcalino descrito en los ejemplos más adelante. Cuanto mayor pasa a ser la tasa de rendimiento de aldehído, menor es el grado de desnaturalización del producto de degradación de lignina.

Con respecto a las realizaciones anteriores de la presente invención, se describen los siguientes aspectos relativos al procedimiento para producir el producto de degradación de lignina, y al producto de degradación de lignina.

[1] Un procedimiento para producir un producto de degradación de lignina, que incluye las siguientes etapas (1) a (3):

etapa (1): someter un material de partida de lignocelulosa a un tratamiento de sacarificación enzimática para obtener un residuo de sacarificación;

etapa (2): someter el residuo de sacarificación obtenido en la etapa (1) a un tratamiento térmico en un disolvente mixto que contiene agua y un disolvente orgánico que tiene una solubilidad en agua a 20°C de no menos de 90 g/l, preferiblemente de no menos de 100 g/l y más preferiblemente de no menos de 120 g/l para obtener una disolución de tratamiento térmico que contiene el producto de degradación de lignina; y

etapa (3): someter la disolución de tratamiento térmico obtenida en la etapa (2) a una separación sólido-líquido para retirar los componentes insolubles de la disolución de tratamiento térmico, obteniendo de ese modo el producto de degradación de lignina.

[2] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en el aspecto [1] anterior, en el que una razón de disolvente orgánico con respecto a agua [disolvente orgánico/agua] (razón en masa) en el disolvente mixto es de 90/10 a 10/90, preferiblemente de 70/30 a 30/70 y más preferiblemente de 60/40 a 40/60.

[3] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en el aspecto [1] o [2] anterior, en el que un valor SP del disolvente orgánico es de 8 a 23, preferiblemente de 8 a 16 y más preferiblemente de 9 a 13.

[4] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [3] anteriores, en el que el disolvente orgánico es al menos un compuesto seleccionado del grupo constituido por alcoholes, nitrilos, éteres y cetonas.

[5] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [4] anteriores, en el que el disolvente orgánico es al menos un compuesto seleccionado del grupo constituido por etanol, isopropanol, acetonitrilo, dioxano, acetona y metil etil cetona, preferiblemente al menos un compuesto seleccionado del grupo constituido por etanol, isopropanol y acetona, y más preferiblemente acetona.

[6] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [5] anteriores, en el que el disolvente mixto comprende además un ácido o una base.

5 [7] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en el aspecto anterior [6], en el que un contenido del ácido o la base en el disolvente mixto usado en la etapa (2) es de 0,001 a 1,0% en masa y preferiblemente de 0,01 a 0,5% en masa basándose en el disolvente mixto.

10 [8] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [7] anteriores, en el que el disolvente mixto comprende además un eliminador de radicales, preferiblemente al menos un eliminador de radicales seleccionado del grupo constituido por un eliminador de radicales aromático, un eliminador de radicales a base de amina, un eliminador de radicales a base de radicales libres estabilizados, un eliminador de radicales a base de ácidos orgánicos, un eliminador de radicales a base de catequina y un hidrógeno molecular, más preferiblemente al menos un eliminador de radicales seleccionado del grupo constituido por un eliminador de radicales aromático, un eliminador de radicales a base de amina, un eliminador de radicales a base de ácidos orgánicos, un eliminador de radicales a base de catequina y un hidrógeno molecular, todavía más preferiblemente al menos un eliminador de radicales seleccionado del grupo constituido por un eliminador de radicales aromático y un eliminador de radicales a base de ácidos orgánicos, y aún todavía más preferiblemente un eliminador de radicales aromático.

20 [9] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en el aspecto [8] anterior, en el que un contenido del eliminador de radicales en el disolvente mixto es de 5 a 1000% en moles, preferiblemente de 6 a 500% en moles, más preferiblemente de 8 a 200% en moles y todavía más preferiblemente de 10 a 100% en moles basándose en el número de moles de lignina en el residuo de sacarificación.

25 [10] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [9] anteriores, en el que el disolvente mixto se usa en una cantidad que es de 2 a 40 veces, preferiblemente de 2 a 30 veces, más preferiblemente de 3 a 30 veces y todavía más preferiblemente de 5 a 30 veces una masa de un componente sólido en el residuo de sacarificación.

30 [11] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [10] anteriores, en el que una temperatura del tratamiento térmico en la etapa (2) es de 40 a 300°C, preferiblemente de 80 a 280°C, más preferiblemente de 100 a 250°C y todavía más preferiblemente de 120 a 200°C.

35 [12] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [11] anteriores, en el que el material de partida de lignocelulosa se somete a un tratamiento de molienda o un tratamiento hidrotérmico antes del tratamiento de sacarificación enzimática.

40 [13] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [11] anteriores, en el que el material de partida de lignocelulosa se somete a un tratamiento de molienda antes del tratamiento de sacarificación enzimática.

45 [14] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en el aspecto [12] o [13] anterior, en el que en el tratamiento de molienda, un contenido de agua en el material de partida de lignocelulosa es de no más del 40% en masa, preferiblemente de 0,01 a 40% en masa, más preferiblemente de 0,1 a 35% en masa, todavía más preferiblemente de 1 a 30% en masa y aún todavía más preferiblemente de 1 a 20% en masa basándose en una masa seca del material de partida de lignocelulosa.

50 [15] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [12] a [14] anteriores, en el que un tiempo del tratamiento de molienda es de 1 min a 12 h, preferiblemente de 2 min a 6 h, más preferiblemente de 5 min a 3 h y todavía más preferiblemente de 5 min a 2 h.

55 [16] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [12] a [15] anteriores, en el que el tratamiento de molienda se lleva a cabo en presencia de un compuesto básico.

60 [17] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en el aspecto [16] anterior, en el que un contenido de agua tras el tratamiento de molienda es de 0,1 a 40% en masa, preferiblemente de 0,5 a 35% en masa, más preferiblemente de 1 a 30% en masa, todavía más preferiblemente de 1 a 25% en masa y aún todavía más preferiblemente de 2 a 20% en masa basándose en una masa seca del material de partida de lignocelulosa.

65 [18] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en el aspecto [16] o [17] anterior, en el que una cantidad del compuesto base usado tras el tratamiento de molienda es de 0,01 a 10 mol, preferiblemente de 0,05 a 8 mol, más preferiblemente de 0,1 a 5 mol y todavía más preferiblemente de 0,1 a 1,5 mol por 1 mol de una unidad de anhidroglucosa que constituye la celulosa.

[19] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [11] anteriores, en el que el material de partida de lignocelulosa se somete a un tratamiento hidrotérmico antes del tratamiento de sacarificación enzimática.

5 [20] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en el aspecto [12] o [19] anterior, en el que una temperatura de reacción usada en el tratamiento hidrotérmico es de 100 a 400°C, preferiblemente de 120 a 300°C, más preferiblemente de 130 a 220°C y todavía más preferiblemente de 140 a 200°C.

10 [21] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [12], [19] y [20] anteriores, en el que una presión de reacción usada en el tratamiento hidrotérmico es de 0 a 50 MPa, preferiblemente de 0,01 a 40 MPa, más preferiblemente de 0,1 a 20 MPa y todavía más preferiblemente de 0,5 a 20 MPa.

15 [22] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [12] y [19] a [21] anteriores, en el que un tiempo de reacción en el tratamiento hidrotérmico es de 0,0001 a 24 h, preferiblemente de 0,0001 a 18 h y más preferiblemente de 0,0001 a 12 h.

20 [23] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [22] anteriores, en el que la enzima es al menos una enzima seleccionada del grupo constituido por celulasas y hemicelulasas, preferiblemente al menos una enzima seleccionada del grupo constituido por celobiohidrolasa, β -glucosidasa, endoglucanasa y hemicelulasas, y más preferiblemente al menos una enzima seleccionada del grupo constituido por celobiohidrolasa y endoglucanasa.

25 [24] El procedimiento para producir un producto de degradación de lignina descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [23] anteriores, en el que el material de partida de lignocelulosa es al menos un material seleccionado del grupo constituido por astillas de conífera, astillas de árbol de hoja caduca, bagazo, pajas de arroz, tallos y hojas de maíz, racimos de frutas vacíos de palmera (EFB), forraje, cáscaras de palmera, cáscaras de coco, papeles y algas, preferiblemente bagazo, EFB o astillas de madera obtenidas de palmera de aceite, y más preferiblemente bagazo.

30 [25] Un producto de degradación de lignina producido mediante el procedimiento descrito en uno cualquiera de los aspectos [1] a [24] anteriores.

35 [26] El producto de degradación de lignina descrito en el aspecto [25] anterior, en el que el producto de degradación de lignina tiene una tasa de rendimiento de aldehído de no menos del 10%, preferiblemente de no menos del 12,5%, más preferiblemente de no menos del 15% y todavía más preferiblemente de no menos del 20% medida mediante un método de oxidación de nitrobenzeno alcalino.

Ejemplos

40 En los siguientes ejemplos y ejemplos comparativos, el término “%” indica “% en masa”, a menos que se indique de otro modo. Los métodos de medición y de evaluación de diversas propiedades son los siguientes.

(1) Cálculo del contenido de holocelulosa en el material de partida de lignocelulosa

45 Se molió el material de partida de lignocelulosa y se sometió a una extracción Soxhlet con un disolvente mixto que contiene etanol y dicloroetano (a una razón en masa de 1:1) durante 6 h. La muestra extraída obtenida se secó a vacío a 60°C. A 2,5 g de la muestra así obtenida se le añadieron 150 ml de agua, 1,0 g de clorito de sodio y 0,2 ml de ácido acético, y se calentó la mezcla resultante a una temperatura de 70 a 80°C durante 1 h. Sucesivamente, el procedimiento que incluye las etapas de añadir el clorito de sodio y el ácido acético y calentar la mezcla resultante se repitió 3 o 4 veces hasta que la muestra se decoloró de manera blanquecina. El residuo blanco así obtenido se filtró a través de un filtro de vidrio (1G-3) y se lavó con agua enfriada y acetona, y entonces se secó hasta peso constante a 105°C para determinar la masa del residuo. A partir de la siguiente fórmula, se calculó el contenido de holocelulosa en el material de partida de lignocelulosa y se definió como el contenido de celulosa en el mismo.

55
$$\text{Contenido de celulosa (\% en masa)} = [\text{masa de residuo (g)}/\text{masa de material de partida de lignocelulosa tomado como muestra (g: en términos de masa de material de partida secado)}] \times 100$$

(2) Cálculo del número de moles de unidades de anhidroglucosa (AGU)

60 Se calculó el número de moles de AGU a partir de la siguiente fórmula asumiendo que todas las holocelulosas en el material de partida de lignocelulosa son celulosas.

Número de moles de AGU = masa de holocelulosas (g)/162

65 (3) Medición del contenido agua en el material de partida de lignocelulosa

Se midió el contenido de agua en el material de partida de lignocelulosa usando un instrumento de prueba de humedad por infrarrojos (nombre comercial "FD-610" fabricado por Kett Electric Laboratory). Se realizó la medición a 150°C y se tomó el punto en el que el cambio de masa con el tiempo durante 30 s era del 0,1% o menos como el punto final de la medición. El contenido en agua así medido se convirtió en porcentaje(s) en masa basándose en una masa seca del material de partida de lignocelulosa.

(4) Método de medición de la cristalinidad de producto molido del material de partida de lignocelulosa

Se midió cada muestra para una intensidad de difracción de rayos X en las siguientes condiciones usando un "difractómetro de rayos X Rigaku RINT 2500VC" fabricado por Rigaku Corporation, y se calculó la cristalinidad de la muestra a partir de la siguiente fórmula de cálculo (1).

Condiciones de medición

fuelle de rayos X: radiación Cu/K_α,

voltaje del tubo: 40 kV,

corriente del tubo: 120 mA,

intervalo de medición: 2θ = de 5 a 45°, y

se preparó una gragea comprimida que tiene un área superficial de 320 mm² y un grosor de 1 mm y se usó como muestra para la medición. Se realizó la medición a una velocidad de barrido de rayos X de 10°/min.

[Cristalinidad de tipo celulosa I]

Se calculó la cristalinidad de tipo celulosa I mediante el método de Segal a partir de un valor de intensidad de difracción obtenido mediante un método de difracción de rayos X, y se definió mediante la siguiente fórmula de cálculo (1):

Cristalinidad de tipo celulosa I (%) = $[(I_{22,6} - I_{18,5})/I_{22,6}] \times 100$ (1)

en la que I_{22,6} es una intensidad de difracción de un plano reticular (plano 002) medida a un ángulo de difracción 2θ de 22,6° en análisis de difracción de rayos X; e I_{18,5} es una intensidad de difracción de un resto amorfo medida a un ángulo de difracción 2θ de 18,5° en análisis de difracción de rayos X.

(5) Método de medición del tamaño de partícula promedio del producto molido del material de partida de lignocelulosa

Se midió el tamaño de partícula promedio usando un analizador de distribución de tamaño de partícula mediante difracción láser/dispersión (nombre comercial "LA-950" fabricado por Horiba Ltd.). Más específicamente, antes de la medición, se sometió una muestra que iba a medirse a tratamiento ultrasónico durante 1 min para dispersar la muestra en agua como medio de dispersión, y se midió a temperatura ambiente la mediana del diámetro de la muestra basándose en un volumen de la misma.

(6) Cálculo del contenido de lignina en el material de partida de lignocelulosa

Se calculó el contenido de lignina en el material de partida de lignocelulosa a partir de la siguiente fórmula. Al mismo tiempo, se determinó el contenido de lignina en cada residuo de sacarificación enzimática como sustrato inicial en la etapa (2) y el residuo final obtenido en la etapa (2) mediante el mismo método.

Contenido de lignina (g) = [contenido de lignina insoluble en ácido real (%) + contenido de lignina soluble en ácido (%)] x masa de muestra (en base seca) (g)/100

En la fórmula anterior, el contenido de lignina insoluble en ácido real y el contenido de lignina soluble en ácido se calculan mediante los siguientes métodos.

(Cálculo del contenido de lignina insoluble en ácido real)

Se calculó el contenido de lignina insoluble en ácido real restando un contenido en cenizas de un contenido de lignina insoluble en ácido en bruto según la siguiente fórmula.

Contenido de lignina insoluble en ácido real (%) = contenido de lignina insoluble en ácido bruto (%) x [100 - contenido en cenizas (%)]/100

(Cálculo del contenido de lignina insoluble en ácido bruto)

Se secó el material de partida de lignocelulosa molido a vacío a 60°C. Se colocó la muestra así secada en una cantidad de 300 mg en un vial, y se añadieron a la misma 3 ml de ácido sulfúrico al 72%, y se agitó adecuadamente la mezcla resultante en un baño de agua a 30°C durante 1 h. Después de esto, se mezcló la mezcla con 84 ml de agua y se transfirió a una botella de presión, y entonces se trató en un autoclave a 120°C durante 1 h. Entonces, la muestra se extrajo del autoclave antes de que su temperatura cayera hasta 70°C o menos, y se sometió a filtración por succión usando un filtro de vidrio 1G-3, cuyo peso constante se midió previamente. Se almacenó el filtrado resultante (A), mientras que el filtro de vidrio cargado con un residuo se lavó completamente con agua y entonces se secó a 105°C para medir un peso constante del mismo, determinando de este modo una masa de la lignina insoluble en ácido bruta tomada como muestra (en base seca) según la siguiente fórmula.

Contenido de lignina insoluble en ácido bruto (%) = [masa de residuo de lignina (g)/masa de muestra (en base seca) (g)] x 100

(Cálculo del contenido en cenizas)

Se transfirió la lignina insoluble en ácido en bruto a un crisol, cuyo peso constante se midió previamente, se retuvo en el mismo a 575°C durante 12 h y entonces se enfrió hasta medir un peso constante del crisol y se determinó la masa de la muestra tras la formación de cenizas. Se calculó el contenido en cenizas a partir de la siguiente fórmula.

Contenido en cenizas (%) = [masa de la muestra tras la formación de cenizas (g)/masa de lignina insoluble en ácido bruta tomada como muestra (en base seca) (g)] x 100

(Cálculo del contenido de lignina soluble en ácido)

Se midió el contenido de lignina soluble en ácido mediante el siguiente método.

Se tomó una muestra del filtrado (A) en un volumen constante de 100 ml y se midió para determinar una absorbancia del mismo a 205 nm usando un absorciómetro "UV-vis". En este caso, se diluyó de manera adecuada el filtrado de modo que la absorbancia del mismo estuviese en el intervalo de 0,3 a 0,8.

Contenido de lignina soluble en ácido (%) = $d \times v \times (A_s - A_b) / (a \times w) \times 100$

en el que d: razón de dilución; v: volumen constante (l) de filtrado; As: absorbancia de la disolución de muestra; Ab: absorbancia de la disolución en blanco; a: coeficiente de absorción de lignina; w: masa de muestra (en base seca) (g).

Como coeficiente de absorción (a) de lignina, se usó 110 l/g/cm como valor descrito como valor promedio conocido en un documento de referencia ("Methods in Lignin Chemistry", UNI Publishing Co., Ltd.).

(7) Método de medición de la tasa de extracción de lignina

Se calculó la tasa de extracción de lignina tal como sigue.

(En el caso de un residuo de sacarificación enzimática)

Tasa de extracción de lignina (% en masa) = [(masa de residuo de sacarificación enzimática cargado (g) x contenido de lignina en el residuo de sacarificación enzimática (%)) - (masa del residuo final obtenido en la etapa (2) (g) x contenido final en el residuo final obtenido en la etapa (2) (%))]/[masa de residuo de sacarificación enzimática cargado (g) x contenido de lignina en el residuo de sacarificación enzimática (%)] x 100 x K

$K = [masa \text{ de residuo de sacarificación enzimática recuperado (g) } \times \text{ contenido de lignina en el residuo de sacarificación enzimática (\%)}] / [masa \text{ de material de partida de lignocelulosa cargado (g) } \times \text{ contenido de lignina en el material de partida de lignocelulosa (\%)}]$

Al mismo tiempo, el residuo final obtenido en la etapa (2) significa un componente insoluble contenido en la disolución de tratamiento térmico obtenida en la etapa (2).

(En el caso de un método de cocción Kraft)

Tasa de extracción de lignina (% en masa) = [masa de lignina sometida a cocción Kraft recuperada (g) x contenido de lignina sometido a cocción Kraft (%)]/[masa de material de partida de lignocelulosa (g) x contenido de lignina en el material de partida de lignocelulosa (%)]

(8) Método de medición del peso molecular promedio en peso de lignina

Se midió el peso molecular de lignina producida según el procedimiento de la presente invención mediante un método cromatográfico en gel en las siguientes condiciones.

Se conectaron dos columnas "TSK-GEL α -M" disponibles de Tosoh Corp, y una precolumna con el aparato de GPC "HLC-8120GPC" disponible de Tosoh Corp. Se permitió que N,N-dimetilformamida, en la que se habían disuelto H_3PO_4 y LiBr en cantidades de 60 mmol/l y 50 mmol/l, respectivamente, como eluyente, fluyera a través de las columnas a un caudal de 1 ml/min, y se estabilizaron las columnas en un termostato a 40°C. Se inyectaron cien microlitros de la disolución de muestra en las columnas para medir un peso molecular de la muestra. Se calculó el peso molecular de la muestra basándose en una curva de calibración preparada previamente. Se preparó la curva de calibración del peso molecular usando varias clases de poliestirenos monodispersos ("A-500" (peso molecular: $5,0 \times 10^2$), "F-10" (peso molecular: $9,64 \times 10^4$) y "F-850" (peso molecular: $8,42 \times 10^6$) todos disponibles de Tosoh Corporation; y aquellos poliestirenos monodispersos que tienen pesos moleculares de $4,0 \times 10^3$, $3,0 \times 10^4$ y $9,29 \times 10^5$ disponibles de Pressure Chemical) como muestras convencionales de referencia.

(9) Método de medición del grado de desnaturalización de lignina

Se evaluó el grado de desnaturalización de lignina a partir de una tasa de rendimiento de aldehído de la misma como índice usando un método de oxidación de nitrobenzono alcalino descrito en un documento de referencia ("Methods in Lignin Chemistry", UNI Publishing Co., Ltd.). Más específicamente, se midió el grado de desnaturalización de lignina mediante el siguiente método.

Esto es, se pesaron aproximadamente 200 mg del material de partida de lignocelulosa (de 40 a 60 de malla) o 50 mg de lignina purificada como muestra. Se cargó la muestra, 7 ml de una disolución acuosa de hidróxido de sodio 2 M y 0,4 ml de nitrobenzono en un vial de 20 ml y se calentó a 170°C durante 2,5 h mientras se agitaba a 900 rpm. Tras completarse la reacción, se enfrió la disolución de reacción resultante y entonces se extrajo con 10 ml de dietil éter tres veces para retirar un producto reducido de nitrobenzono y una cantidad en exceso de nitrobenzono de la misma. Se añadió ácido clorhídrico concentrado a la fase acuosa restante para ajustar un valor de pH de la misma a 1, y se extrajo la disolución obtenida con 10 ml de dietil éter tres veces. Se sometió la disolución de extracción de dietil éter resultante a destilación a presión reducida para obtener una mezcla de oxidación. Se diluyó la mezcla resultante con 20 ml de diclorometano en un cilindro de medición. Entonces, se filtraron 2 ml de la disolución diluida obtenida a través de una membrana Millipore HVHP (disponible de Millipore Japan; tamaño de poro: $0,45 \mu\text{m}$) y se sometió a cromatografía de gases (GC).

Las condiciones para la cromatografía de gases fueron las siguientes. Esto es, se usó un aparato de GC (disponible de Agilent Technologies Inc.) equipado con una columna "Agilent J & W GC Column DB-5" (disponible de Agilent Technologies Inc.) en las siguientes condiciones: cantidad de muestra: 1,0 μl ; caudal de helio: 10 ml/min; temperatura de orificio de inyección: 200°C; relación de separación: 10:1. Se ajustó la temperatura de modo que el sistema de reacción se mantuvo a una temperatura de 60°C durante 1 min, se elevó hasta el intervalo de 60 a 250°C a una tasa de 5°C/min y se mantuvo a 250°C durante 10 min. Se realizó la determinación cuantitativa de la muestra usando una curva de calibración preparada con respecto a un área de pico basándose en una concentración de respectivos agentes que incluyen vainillina, siringaldehído y p-hidroxibenzaldehído para determinar de ese modo una cantidad de cada aldehído producido en la muestra.

La suma de las cantidades de los tres aldehídos producidos se definió como el rendimiento de aldehído en la muestra. Se calculó la tasa de rendimiento de aldehído (%) como índice del grado de desnaturalización de lignina dividiendo el rendimiento de aldehído entre la masa de lignina en la muestra cargada.

Cuando aumenta la tasa de rendimiento de aldehído puede producirse el producto de degradación de lignina con un menor grado de desnaturalización.

(10) Evaluación de la solubilidad en disolventes del producto de degradación de lignina

Se tomó como muestra en un vial 1 mg del producto de degradación de lignina resultante, y se añadió 1 mg de un disolvente al mismo. Se agitó la disolución resultante para evaluar visualmente una solubilidad de lignina en el disolvente. Como disolvente se usó dimetilsulfóxido (DMSO) o dimetilformamida (DMF).

Ejemplo 1

(Pretratamiento)

Se puso bagazo (residuos sometidos a presión de caña de azúcar; contenido en agua: 7,0%) como material de partida de lignocelulosa en un secador de vacío ("VO-320" (nombre comercial) disponible de Advantec Toyo Kaisha, Ltd.) y se secó a presión reducida en un flujo de nitrógeno durante 2 h, obteniendo de ese modo bagazo secado que tiene un contenido en agua del 2,0%, un contenido de holocelulosa del 71,3% en masa y un contenido de lignina del

22,8%.

Se pesó el bagazo secado así obtenido en una cantidad de 100 g y se cargó en un molino con vibración de tipo discontinuo ("MB-1" (nombre comercial) disponible de Chuo Kakohki Co., Ltd.; capacidad total del recipiente: 3,5 l; lleno con barras SUS304 con una sección de forma circular que tiene un diámetro de $\phi 30$ mm y una longitud de 218 mm, con una razón de llenado del 57%) y se sometió a un tratamiento de molienda durante 10 min, obteniendo de ese modo un bagazo molido (cristalinidad de tipo celulosa I: 0%; tamaño de partícula promedio: 68,0 μm).

[Etapa (1)]

Se pesó el bagazo molido así obtenido en una cantidad de 100 g y se cargó en 2,0 l de una disolución tampón de ácido acético 100 mM (pH: 5,0) y se añadieron 20 ml de una preparación de celulosa/hemicelulasa ("Cellic CTec 2") disponible de Novozymes a la misma. Se mantuvo la mezcla resultante a 50°C mientras se agitaba a 600 rpm para someter la mezcla a una sacarificación enzimática. Tras 24 h, se terminó la reacción y se sometió la disolución de reacción resultante a separación centrífuga para separar la disolución en una disolución de sobrenadante y un residuo de sacarificación. Se sometió el residuo de sacarificación a etapas de lavado y separación centrífuga repetidas y entonces a secado por congelación. Se midió el contenido de lignina en el residuo de sacarificación mediante el método anterior.

[Etapa (2)]

Se cargó el residuo de sacarificación (masa seca absoluta: 250 mg) en un recipiente de reacción (capacidad: 5 ml) y se añadieron 4,8 g de un disolvente mixto de acetona/agua (razón en masa: 50/50) al mismo. Entonces, se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se sometió el contenido del recipiente de reacción a calentamiento por microondas a 160°C a 1,6 MPa durante 30 min mientras se agitaba a 900 rpm usando un calentador de microondas "Initiator 60" (disponible de Biotage Japan Ltd.), obteniendo de ese modo una disolución de tratamiento térmico.

[Etapa (3)]

Se sometió la disolución de tratamiento térmico obtenida en la etapa (2) a separación centrífuga para separar la disolución en una disolución de extracción y un residuo. Se lavó el residuo resultante con acetona, agua y un disolvente mixto de acetona y agua hasta que una disolución de extracción de la misma se volvió transparente. Se recogieron las disoluciones de extracción de la separación centrífuga y el lavado y se sometieron a destilación a presión reducida para retirar los disolventes contenidos en la disolución de extracción. Se lavaron de nuevo los sólidos resultantes con agua y se secaron los componentes insolubles en agua obtenidos a presión reducida a temperatura ambiente, obteniendo de ese modo 94 mg de un producto de degradación de lignina. Los resultados se muestran en las tablas 1 y 2.

Ejemplo 2

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque se añadieron 240 μl de ácido clorhídrico (concentración: 1,0 M) al disolvente en la etapa (2) y se añadieron 240 μl de hidróxido de sodio 1,0 M a las disoluciones de extracción recogidas en la etapa (3) para neutralizar las disoluciones de extracción. Los resultados se muestran en las tablas 1 y 2.

Ejemplo 3

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 2 excepto porque se realizó el siguiente pretratamiento y se sometió el bagazo molido resultante a la etapa (1). Los resultados se muestran en las tablas 1 y 2.

(Pretratamiento)

Se cargaron cien gramos del bagazo secado obtenido de la misma manera que en el ejemplo 1 y 4,4 g (correspondientes a 0,25 mol por 1 mol de AGU que constituye la holocelulosa) de hidróxido de sodio granular que tenía un tamaño de partícula de 0,7 mm ("TOSOH PEARL" (nombre comercial) disponible de Tosoh Corp.) en un molino con vibración de tipo discontinuo y se sometió a un tratamiento de molienda durante 2 h, obteniendo de ese modo un bagazo molido (cristalinidad de tipo celulosa I: 14%; tamaño de partícula promedio: 56,6 μm). Se neutralizaron cien gramos del bagazo molido así obtenido (en términos del material de partida seco excepto por el compuesto de base) con ácido clorhídrico 1,0 M.

Ejemplo comparativo 1

Se mezcló el bagazo como material de partida con $\text{NaOH}/\text{Na}_2\text{S}/\text{Na}_2\text{CO}_3$ (= 103,7/41,4/32,7 en términos de Na_2O , razón en masa; tasa de adición de álcali activo: el 16,5% basado en el bagazo seco absoluto en términos de Na_2O) y el 0,05% de antraquinona de modo que la razón de sólido-líquido de la mezcla resultante era de 5 l/kg de bagazo.

Se calentó la mezcla a 170°C durante 90 min mientras se agitaba. Tras completar la reacción, se sometió la mezcla de reacción obtenida a una separación sólido-líquido y se neutralizó el filtrado resultante con ácido clorhídrico para hacer precipitar una fracción sólida del mismo. Se separó la fracción así precipitada mediante separación sólido-líquido, obteniendo de ese modo lignina cocida mediante Kraft. Los resultados se muestran en la tabla 1.

5

Ejemplo comparativo 2

Se cargaron cien gramos del bagazo secado obtenido de la misma manera que en el ejemplo 1 en un molino con vibración de tipo discontinuo ("MB-1" (nombre comercial) disponible de Chuo Kakohki Co., Ltd.; capacidad total del recipiente: 3,5 l; lleno con barras SUS304 con una sección de forma circular que tiene un diámetro de $\phi 30$ mm y una longitud de 218 mm, a una razón de llenado del 57%) y se sometieron a un tratamiento de molienda durante 2 h, obteniendo de ese modo un bagazo molido (cristalinidad: 0%; tamaño de partícula promedio: 55,4 μm). A continuación, se realizó el procedimiento posterior de la misma manera que en el ejemplo 1 excepto porque se omitió la etapa (1) y se usó el bagazo molido como material de partida en la etapa (2). Los resultados se muestran en la tabla 1.

10

15

Ejemplo comparativo 3

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque el contenido del recipiente de reacción se agitó a una temperatura normal (25°C) a presiones normales durante 30 min. Los resultados se muestran en la tabla 1.

20

TABLA 1

	Ejemplos			Ejemplos comparativos		
	1	2	3	1	2	3
Material de partida de lignocelulosa	Bagazo	Bagazo	Bagazo	Bagazo	Bagazo	Bagazo
Pretratamiento						
Método de tratamiento	Molienda	Molienda	Molienda/adición de compuesto de base	Cocción Kraft	Molienda	Molienda
Tiempo de tratamiento	10 h	10 h	2 h	90 min	2 h	10 h
Etapas (1) (sacarificación enzimática)	Realizada	Realizada	Realizada	Ninguna	Ninguna	Realizada
Etapas (2)						
Razón de mezclado: disolvente orgánico/agua	50/50	50/50	50/50	-	50/50	50/50
Disolvente orgánico	Acetona	Acetona	Acetona	-	Acetona	Acetona
Tratamiento de calentamiento	160°C; 30 min	160°C; 30 min	160°C; 30 min	-	160°C; 30 min	25°C; 30 min
Acido o base	-	Acido clorhídrico	Acido clorhídrico	-	-	-
Etapas (3)	Filtración/destilación a presión reducida/lavado con agua			Neutralización/ lavado con agua	Filtración/destilación a presión reducida/ lavado con agua	
Resultados de evaluación						
Tasa de extracción de lignina (%)	65,4	85,2	77,2	63,6	9,9	27,1
Tasa de rendimiento de aldehído (%) (índice de grado de desnaturalización)	33,1	20,1	22,4	8,9	19,6	21

Ejemplos 4 a 6

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque se cambió la razón de mezclado de acetona/agua en la etapa (2) a 33/67, 67/33 y 90/10 (razón en masa), respectivamente, y se dejó la presión de reacción sin ningún control. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Ejemplo 7

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque se usó etanol en lugar de acetona en la etapa (2) y se dejó la presión de reacción sin ningún control. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Ejemplo 8

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 5 excepto porque se usó etanol en lugar de acetona en la etapa (2) y se dejó la presión de reacción sin ningún control. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Ejemplos 9 a 12

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque se usaron acetonitrilo (ejemplo 9), metil etil cetona (ejemplo 10), dioxano (ejemplo 11) e isopropanol (ejemplo 12) respectivamente en lugar de acetona en la etapa (2) y se dejó la presión de reacción sin ningún control. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Ejemplos 13 a 15

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque en la etapa (2) se añadieron 60 µl de ácido sulfúrico (concentración: 1,0 M) (ejemplo 13), 120 µl de ácido clorhídrico (concentración: 1,0 M) (ejemplo 14) o 21 mg de ácido p-toluenosulfónico monohidratado (ejemplo 15) al disolvente y se ajustaron la temperatura de reacción y la presión de reacción a 140°C y 1,0 MPa, respectivamente, y además se neutralizaron las disoluciones de extracción recogidas en la etapa (3) con hidróxido de sodio 1,0 M. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Ejemplo 16

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque se añadieron 10 mg de ácido linoleico al disolvente en la etapa (2). Los resultados se muestran en la tabla 2.

Ejemplos 17 a 19

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque en la etapa (2) se añadieron 15 mg de cloruro de aluminio (ejemplo 17), 4 mg de hidróxido de sodio (ejemplo 18) o 25 mg de hidróxido de sodio (ejemplo 19) al disolvente y se ajustaron la temperatura de reacción y la presión de reacción a 140°C y 1,0 MPa, respectivamente, y además se neutralizaron las disoluciones de extracción recogidas en la etapa (3) con ácido clorhídrico 1,0 M. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Ejemplo comparativo 4

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque el disolvente mixto de acetona/agua usado en la etapa (2) se reemplazó por acetona ([disolvente orgánico/agua] (razón en masa): 100/0) y se dejó la presión de reacción sin ningún control, y además se lavó el residuo obtenido con acetona y agua en la etapa (3). Los resultados se muestran en la tabla 2.

Ejemplo comparativo 5

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque el disolvente mixto de acetona/agua usado en la etapa (2) se reemplazó por etanol ([disolvente orgánico/agua] (razón en masa): 100/0) y se dejó la presión de reacción sin ningún control, y además se lavó el residuo obtenido con etanol y agua en la etapa (3). Los resultados se muestran en la tabla 2.

Ejemplo comparativo 6

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque el disolvente mixto de acetona/agua usado en la etapa (2) se reemplazó por agua ([disolvente orgánico/agua] (razón en masa): 0/100) y se dejó la presión de reacción sin ningún control, y además se lavó el residuo obtenido con acetona y agua en la etapa (3). Los resultados se muestran en la tabla 2.

Ejemplos comparativos 7 y 8

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 excepto porque la acetona usada en la etapa (2) se reemplazó por 1,2-dicloroetano (ejemplo comparativo 7) o acetato de etilo (ejemplo comparativo 8), que tenían ambos una solubilidad en agua a 20°C de menos de 90 g/l, y se dejó la presión de reacción sin ningún control. Los resultados se muestran en la tabla 2.

5

TABLA 2

	Etapa (2)*1				Resultados de evaluación	
	Disolvente orgánico	Razón de mezclado: disolvente orgánico/agua	Tratamiento térmico	Acido/base	Tasa de extracción de lignina (%)	Peso molecular promedio en peso
Ejemplo 1	Acetona	50/50	160°C; 30 min	-	65,4	22.014
2	Acetona	50/50	160°C; 30 min	Acido clorhídrico	85,2	3.380
3	Acetona	50/50	160°C; 30 min	Acido clorhídrico	77,2	3.402
4	Acetona	33/67	160°C; 30 min	-	64,1	15.151
5	Acetona	67/33	160°C; 30 min	-	57,7	14.496
6	Acetona	90/10	160°C; 30 min	-	44,2	5.187
7	Etanol	50/50	160°C; 30 min	-	51,8	10.806
8	Etanol	67/33	160°C; 30 min	-	48,0	11.574
9	Acetonitrilo	50/50	160°C; 30 min	-	66,7	13.700
10	Metil etil cetona	50/50	160°C; 30 min	-	67,7	8.240
11	1,4-Dioxano	50/50	160°C; 30 min	-	70,6	21.356
12	Isopropanol	50/50	160°C; 30 min	-	61,5	8.893
13	Acetona	50/50	140°C; 30 min	Acido sulfúrico	77,8	8.788
14	Acetona	50/50	140°C; 30 min	Acido clorhídrico	83,7	6.618
15	Acetona	50/50	140°C; 30 min	Acido p- toluenosulfónico	74,9	9.551
16	Acetona	50/50	160°C; 30 min	Acido linoleico	74,4	23.866
17	Acetona	50/50	140°C; 30 min	Cloruro de aluminio	84,7	4.028
18	Acetona	50/50	140°C; 30 min	Hidróxido de sodio	75,5	33.973
19	Acetona	50/50	140°C; 30 min	Hidróxido de sodio	82,5	32.162
Ejemplo comparativo 4	Acetona	100/0	160°C; 30 min	-	21,5	3.620
5	Etanol	100/0	160°C; 30 min	-	5,5	3.413
6	-	0/100	160°C; 30 min	-	18,2	3.941
7	1,2-Dicloroetano*2	50/50	160°C; 30 min	-	11,0	1.424
8	Acetato de etilo*2	50/50	160°C; 30 min	-	21,0	2.691

Nota *1: En los ejemplos y ejemplos comparativos anteriores, se usó comúnmente bagazo como material de partida de lignocelulosa, y la etapa (1) y la etapa (3) se realizaron comúnmente mediante un tratamiento de sacarificación enzimática y un tratamiento de filtración/destilación a presión reducida/lavado con agua, respectivamente.

*2: Estos disolventes orgánicos tenían una solubilidad en agua a 20°C de menos de 90 g/l.

A partir de la tabla 1, se confirmó que en los ejemplos 1 a 3 según la presente invención, los productos de degradación de lignina que tienen un bajo grado de desnaturalización se produjeron con un alto rendimiento en comparación con aquellos productos de degradación de lignina obtenidos en el ejemplo comparativo 1, en el que se usó el método de cocción Kraft convencional, el ejemplo comparativo 2, en el que no se realizó ninguna etapa (1), y el ejemplo comparativo 3, en el que no se realizó ningún tratamiento térmico en la etapa (2).

A partir de la tabla 2, se confirmó que en los ejemplos 1 a 19 según la presente invención, los productos de degradación de lignina se produjeron con un alto rendimiento en comparación con aquellos productos de degradación de lignina obtenidos en los ejemplos comparativos 4 a 6, en los que agua sola o el disolvente orgánico solo se usó como disolvente en la etapa (2), y los ejemplos comparativos 7 y 8, en los que se usó el disolvente que tiene una baja solubilidad en agua.

Además, como resultado de evaluar una solubilidad en disolventes de los productos de degradación de lignina obtenidos en los ejemplos 1 a 19, se confirmó que los productos de degradación de lignina obtenidos en los ejemplos 1 a 17 se disolvieron uniformemente en los disolventes, mientras que en los ejemplos 18 y 19, la mayoría de los productos de degradación de lignina obtenidos se disolvieron en los disolventes, aunque una pequeña parte de los productos de degradación de lignina todavía permanecía insoluble.

Ejemplo 20

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 3 excepto porque se añadió el 20% en moles de hidroquinona (cantidad añadida basándose en el número de moles de lignina calculado dividiendo un contenido de lignina en el sustrato entre 182 como peso molecular de un monómero constitutivo; definido a continuación en el presente documento de la misma) como eliminador de radicales al disolvente en la etapa (2). Los resultados se muestran en la tabla 3.

Ejemplo 21

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 3 excepto porque se añadió el 40% en moles de hidroquinona como eliminador de radicales al disolvente en la etapa (2). Los resultados se muestran en la tabla 3.

Ejemplos 22 a 26

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 3 excepto porque se añadió el 20% en moles de benzoquinona (ejemplo 22), metoquinona (monometil éter de hidroquinona) (ejemplo 23), 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (ejemplo 24), fenol (ejemplo 25) o ácido ascórbico (ejemplo 26) como eliminador de radicales al disolvente en la etapa (2). Los resultados se muestran en la tabla 3.

TABLA 3

	Ejemplos					
	3	20	21	22	23	24
Material de partida de lignocelulosa	Bagazo	Bagazo	Bagazo	Bagazo	Bagazo	Bagazo
Pretratamiento	Molienda /adición de compuesto de base	Molienda /adición de compuesto de base	Molienda /adición de compuesto de base	Molienda /adición de compuesto de base	Molienda /adición de compuesto de base	Molienda /adición de compuesto de base
Tiempo de tratamiento	2 h	2 h	2 h	2 h	2 h	2 h
Etapas (1) (sacarificación enzimática)	Realizada	Realizada	Realizada	Realizada	Realizada	Realizada
Etapas (2)						
Razón de mezclado: disolvente orgánico/agua	50/50	50/50	50/50	50/50	50/50	50/50
Disolvente orgánico	Acetona	Acetona	Acetona	Acetona	Acetona	Acetona
Tratamiento de calentamiento	160°C; 30 min	160°C; 30 min	160°C; 30 min	160°C; 30 min	160°C; 30 min	160°C; 30 min
Acido o base	Acido clorhídrico	Acido clorhídrico	Acido clorhídrico	Acido clorhídrico	Acido clorhídrico	Acido clorhídrico
Eliminador de radicales	Ninguno	Hidroquinona	Hidroquinona	Benzoquinona	Metquinona	2,6-Di-terc-butil-4-metilfenol
Cantidad de eliminador de radicales añadida (% en moles)*1	-	20	40	20	20	20
Etapas (3)	Filtración/destilación a presión reducida/lavado con agua					
Resultados de evaluación						
Tasa de extracción de lignina (%)	77,2	89,3	96,9	95,3	92,6	93,2
Tasa de rendimiento de aldehído (%) (índice de grado de desnaturalización)	22,4	15,6	16,1	18,0	14,2	11,8
Peso molecular promedio en peso	3.402	3.094	2.571	2.771	3.086	3.459
Nota *1: Cantidad (% en moles) del eliminador de radicales basándose en el número de moles de lignina que se calcula dividiendo un contenido de lignina en el residuo de sacarificación entre 180,22 como peso molecular de un monómero constitutivo asumido.						

A partir de la tabla 3, se confirmó que en los ejemplos 20 a 26, en los que se usó el eliminador de radicales en la etapa (2), los productos de degradación de lignina resultantes se produjeron con un mayor rendimiento en comparación con el producto de degradación de lignina obtenido en el ejemplo 3, en el que no se usó ningún eliminador de radicales.

Ejemplo 27

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 2 excepto porque se realizaron el siguiente pretratamiento y la etapa (1), y se sometió el residuo de sacarificación resultante a la etapa (2). Los resultados se muestran en la tabla 4.

(Pretratamiento)

Se cargó bagazo como material de partida de lignocelulosa en una trituradora de un solo husillo ("SSC-12040" (n.º de modelo) disponible de Kinki Industrial Co., Ltd.) y se sometió a un tratamiento de molienda, obteniendo de ese modo un bagazo molido. Se permitió que el bagazo molido resultante pasara a través de un tamiz (tamaño de malla: 1,18 mm) y se sometió la fracción que pasó a través del mismo al siguiente tratamiento hidrotérmico.

Se cargó el bagazo molido (masa seca absoluta: 1000 mg) en un recipiente de reacción (capacidad: 20 ml) y se añadió agua al mismo para ajustar una cantidad de agua en el mismo a 19 g. Entonces, se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se sometió el contenido del recipiente de reacción a un calentamiento por microondas (tratamiento hidrotérmico) a 140°C a 0,5 MPa durante 2 min mientras se agitaba a 900 rpm usando un calentador de microondas "Initiator 60" (disponible de Biotage Japan Ltd.), obteniendo de ese modo una disolución de tratamiento hidrotérmico.

[Etapa (1)]

Tras el tratamiento hidrotérmico anterior se enfrió la disolución hasta 50°C, se cargaron 2,25 ml de una disolución tampón de ácido acético 1,0 M (pH: 5,0) en el recipiente de reacción y entonces se añadieron al mismo 270 µl de una preparación de celulosa/hemicelulasa ("Cellic CTec 2") disponible de Novozymes. Se mantuvo la mezcla resultante a 50°C y se sometió a una sacarificación enzimática mientras se agitaba a 150 rpm. Tras 48 h, se terminó la reacción, y se sometió la disolución de reacción resultante a una separación centrífuga para separar la disolución en una disolución de sobrenadante y un residuo de sacarificación. Se sometió el residuo de sacarificación a etapas de lavado y separación centrífuga repetidas y entonces a secado por congelación. Se midió el contenido de lignina en el residuo de sacarificación mediante el método anterior.

Ejemplo 28

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 27 excepto porque en el pretratamiento se controlaron la temperatura de reacción y la presión de reacción tras el tratamiento hidrotérmico a 180°C y 1,7 MPa, respectivamente. Los resultados se muestran en la tabla 4.

Ejemplo 29

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 28 excepto porque en el pretratamiento se controló el tiempo de reacción tras el tratamiento hidrotérmico a 20 min. Los resultados se muestran en la tabla 4.

Ejemplo 30

Se repitió el mismo procedimiento que en el ejemplo 28 excepto porque en el pretratamiento se añadieron 53 µl de ácido clorhídrico (concentración: 1,0 M) al disolvente usado tras el tratamiento hidrotérmico, y se controlaron la temperatura de reacción, la presión de reacción y el tiempo de reacción usados para realizar el tratamiento hidrotérmico a 180°C, 1,7 MPa y 2 min, respectivamente, y en la etapa (1), tras enfriar la disolución de reacción resultante y neutralizarla con hidróxido de sodio 1,0 M, se añadieron una disolución tampón de ácido acético 1,0 M y una preparación de celulosa/hemicelulosa a la disolución obtenida. Los resultados se muestran en la tabla 4.

TABLA 4

	Ejemplos				
	3	27	28	29	30
Material de partida de lignocelulosa	Bagazo	Bagazo	Bagazo	Bagazo	Bagazo
Pretratamiento					
Método de tratamiento	Molienda/adición de compuesto de base	Hidrotérmico/140°C	Hidrotérmico/180°C	Hidrotérmico/180°C	Hidrotérmico/180°C, adición de ácido clorhídrico
Tiempo de tratamiento	2 h	2 min	2 min	20 min	2 min
Etapas (1) (sacarificación enzimática)	Realizada	Realizada	Realizada	Realizada	Realizada
Etapas (2)					
Razón de mezclado: disolvente orgánico/agua	50/50	50/50	50/50	50/50	50/50
Disolvente orgánico	Acetona	Acetona	Acetona	Acetona	Acetona
Tratamiento de calentamiento	160°C; 30 min	160°C; 30 min	160°C; 30 min	160°C; 30 min	160°C; 30 min
Ácido o base	Ácido clorhídrico	Ácido clorhídrico	Ácido clorhídrico	Ácido clorhídrico	Ácido clorhídrico
Etapas (3)		Filtración/destilación a presión reducida/lavado con agua			
Resultados de evaluación					
Tasa de extracción de lignina (%)	77,2	85,8	85,1	79,0	84,8
Tasa de rendimiento de aldehído (%) (índice de grado de desnaturalización)	22,4	16,4	14,6	12,5	13,3
Peso molecular promedio en peso	3.402	2.918	3.130	3.609	3.094

A partir de la tabla 4, se confirmó que en los ejemplos 27 a 30, en los que el tratamiento hidrotérmico se realizó en el pretratamiento, los productos de degradación de lignina se produjeron con un mayor rendimiento en comparación con el obtenido en el ejemplo 3, en el que no se realizó ningún tratamiento hidrotérmico.

5 **Aplicabilidad industrial**

Según el procedimiento de producción de la presente invención, es posible producir un producto de degradación de lignina que tiene un bajo grado de desnaturalización y una alta solubilidad en disolventes con un alto rendimiento. El producto de degradación de lignina es capaz de convertirse fácilmente en un compuesto aromático de bajo peso molecular, y por tanto puede usarse adecuadamente en los campos de aplicación, por ejemplo, tal como agricultura, perfumes y cosméticos, resinas funcionales, dispersantes para cementos, baterías, etc.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina, que comprende las siguientes etapas (1) a (3):
 5 etapa (1): someter un material de partida de lignocelulosa a un tratamiento de sacarificación enzimática para obtener un residuo de sacarificación;
 10 etapa (2): someter el residuo de sacarificación obtenido en la etapa (1) a un tratamiento térmico en un disolvente mixto que contiene agua y un disolvente orgánico que tiene una solubilidad en agua a 20°C de no menos de 90 g/l para obtener una disolución de tratamiento térmico que contiene el producto de degradación de lignina; y
 15 etapa (3): someter la disolución de tratamiento térmico obtenida en la etapa (2) a una separación sólido-líquido para retirar los componentes insolubles de la disolución de tratamiento térmico, obteniendo de ese modo el producto de degradación de lignina.
2. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según la reivindicación 1, en el que una razón de disolvente orgánico con respecto a agua [disolvente orgánico/agua] (razón en masa) en el disolvente mixto es de 90/10 a 10/90.
3. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según la reivindicación 1 o 2, en el que una razón de disolvente orgánico con respecto a agua [disolvente orgánico/agua] (razón en masa) en el disolvente mixto es de 70/30 a 30/70.
4. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el disolvente orgánico es al menos un compuesto seleccionado del grupo constituido por alcoholes, nitrilos, éteres y cetonas.
- 30 5. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el disolvente orgánico es al menos un compuesto seleccionado del grupo constituido por etanol, isopropanol, acetonitrilo, dioxano, acetona y metil etil cetona.
- 35 6. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el disolvente mixto comprende además un ácido o una base.
7. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el disolvente mixto comprende además un eliminador de radicales.
- 40 8. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el disolvente mixto se usa en una cantidad que va de 2 a 40 veces una masa de un componente sólido en el residuo de sacarificación.
- 45 9. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que una temperatura del tratamiento térmico en la etapa (2) es de 40 hasta 300°C.
- 50 10. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que una temperatura del tratamiento térmico en la etapa (2) es de 120 hasta 200°C.
- 55 11. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el material de partida de lignocelulosa se somete a un tratamiento de molienda o un tratamiento hidrotérmico como pretratamiento antes del tratamiento de sacarificación enzimática.
12. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según la reivindicación 11, en el que el tratamiento de molienda se lleva a cabo en presencia de un compuesto básico.
- 60 13. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según la reivindicación 11, en el que una temperatura de reacción tras el tratamiento hidrotérmico es de 100 a 400°C.
- 65 14. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que la enzima es al menos una enzima seleccionada del grupo constituido por celobiohidrolasa, β -glucosidasa, endoglucanasa y hemicelulasa.

15. Procedimiento para producir un producto de degradación de lignina según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el material de partida de lignocelulosa es al menos un material seleccionado del grupo constituido por astillas de conífera, astillas de árbol de hoja caduca, bagazo, pajas de arroz, tallos y hojas de maíz, racimos de frutas vacíos de palmera, forraje, cáscaras de palmera, cáscaras de coco, papeles y algas.
- 5