

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 612 009**

51 Int. Cl.:

C12P 7/10 (2006.01)

D21C 3/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.02.2009 PCT/EP2009/000920**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.09.2009 WO09112134**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.02.2009 E 09720455 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.10.2016 EP 2265721**

54 Título: **Procedimiento para producir etanol a partir de biomasa con contenido en lignocelulosa**

30 Prioridad:

12.03.2008 DE 102008013845

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.05.2017

73 Titular/es:

**ZYLUM BETEILIGUNGSGESELLSCHAFT MBH & CO. PATENTE II KG (100.0%)
Berliner Strasse 1
12529 Schönfeld/OT Waltersdorf, DE**

72 Inventor/es:

KARSTENS, TIES

74 Agente/Representante:

ARPE FERNÁNDEZ, Manuel

Observaciones :

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

ES 2 612 009 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

Procedimiento para producir etanol a partir de biomasa con contenido en lignocelulosa

- 5 **[0001]** La presente invención se refiere a un procedimiento para producir bioetanol separando lignina de una biomasa lignocelulósica triturada y obtener celulosa y, en caso dado, hemicelulosa y transformar la celulosa o la mezcla de celulosa y hemicelulosa en azúcares y a continuación en bioetanol.
- 10 **[0002]** La biomasa lignocelulósica es una fuente de azúcar fermentable no utilizada hasta ahora industrialmente. A diferencia de las materias primas amiláceas, como los cereales (maíz, trigo, etc.), la degradación enzimática de los polisacáridos contenidos en la biomasa lignocelulósica para obtener azúcares resulta difícil. La resistencia de la biomasa lignocelulósica a una hidrólisis enzimática se debe en particular a la fase cristalina de la celulosa, a la superficie accesible, al revestimiento con lignina y por último al apantallamiento de la celulosa por hemicelulosas.
- 15 **[0003]** Es necesario un tratamiento previo de la biomasa para hacer la celulosa más accesible para las enzimas que han de convertir los hidratos de carbono en azúcar. En este sentido, la clave para mejorar la eficacia y disminuir el coste del bioetanol celulósico se halla en el tratamiento previo de la biomasa lignocelulósica. Los aspectos importantes para un tratamiento previo eficaz consisten en no tener que triturar la biomasa por medios mecánicos demasiado intensamente, conservar dentro de lo posible la fracción de las pentosas y limitar la formación de subproductos que reduzcan el efecto de las enzimas. Además, el consumo de energía y el coste para el tratamiento previo deberían mantenerse en el nivel más bajo posible. Por último, es deseable obtener la lignina y comercializarla como subproducto.
- 20 **[0004]** Estos aspectos esenciales para un aprovechamiento industrial de biomasa lignocelulósica con el fin de producir bioetanol se resumen en "features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass" Nathan Mossier et al. Bioresource technology 96 (2005) 673 - 686. D Fengel y G.Wegener Ilegan, en su monografía "Wood, Chemistry, Ultrastructure, Reactions", De Gruyter, Berlín, Nueva York 1989, a conclusiones similares.
- 25 Existen dos obstáculos principales para la hidrólisis de celulosa destinada a obtener glucosa: el obstáculo principal se halla en la lignina, que puede reducir al mínimo una acción enzimática en la celulosa. Además, la celulosa misma, debido al carácter cristalino de su membrana celular nativa, presenta una gran resistencia a una acción química y enzimática.
- 30 **[0005]** Los procedimientos ya conocidos en el estado actual de la técnica presentan en cada caso desventajas específicas.
- [0006]** En el procedimiento *steam explosion* (explosión por vapor), en esencia se hidrolizan las hemicelulosas mediante vapor a alta temperatura, lo que mejora la accesibilidad para las enzimas, pero, debido a los ácidos liberados, lleva a una inhibición en las enzimas. En un tratamiento con agua caliente bajo presión a temperaturas por encima de los 200° C, una gran parte de la biomasa se hace soluble. Sin embargo, las hemicelulosas degradadas para obtener azúcares siguen reaccionando para formar aldehídos, como furfurales, que son fuertes inhibidores enzimáticos.
- 35 **[0007]** El tratamiento con ácido diluido acarrea serias desventajas. A consecuencia del peligro de corrosión, han de utilizarse materiales muy caros para los reactores. El ácido ha de neutralizarse con cal antes de fermentar los azúcares. La formación de yeso que esto supone repercute negativamente en la solubilidad. Los componentes líquidos han de depurarse mediante intercambiadores de iones antes de la hidrólisis enzimática. Además, el rendimiento disminuye a consecuencia de la formación de productos de degradación e inhibidores enzimáticos. Otras desventajas las constituyen la eliminación del yeso, un largo tiempo de tratamiento enzimático y, por último, el elevado consumo de energía para la molienda de la biomasa.
- 40 **[0008]** En el tratamiento previo con amoniaco se logra un alto grado de des-lignificación, lo que permite reducir el empleo de enzimas. También se modifica el carácter cristalino de la celulosa (la red pasa de celulosa I a celulosa II), lo que aumenta ligeramente la accesibilidad. Sin embargo, se considera una desventaja el alto coste de la recuperación del amoniaco.
- 45 **[0009]** El documento SHAH, M.M. ET AL.: "Effect of Pretreatment on Simultaneous Saccharification and Fermentation of Hardwood into Acetone/Butanol" (APPLIED BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY, t. 28-29, 1991, páginas 99-110) revela un procedimiento para producir etanol separando lignina de madera de álamo temblón triturada, en el que la madera de álamo temblón triturada se trata con la alcanolamina monoetanolamina para extraer la lignina contenida en la misma, se extrae la lignina, se separa la solución de lignina, y el residuo con contenido en celulosa/hemicelulosa resultante se transforma, sin secado, en azúcares y los azúcares se fermentan para obtener etanol, caracterizado porque la madera de álamo temblón triturada se trata directamente con la alcanolamina monoetanolamina para extraer la lignina contenida en la misma. Antes de la extracción, la madera de álamo temblón triturada no se trata con una solución de amoniaco en etanolamina.
- 50 **[0010]** El documento WO 00/61858 A (RHODIA ACETOW GMBH, 19 de octubre de 2000) revela un procedimiento para la obtención de celulosa y hemicelulosa, así como para la separación de lignina, a partir de madera troceada, en el que la madera troceada hidrolizada previamente se trata con la alcanolamina monoetanolamina para extraer la lignina contenida en la misma. Antes de la extracción de la lignina con monoetanolamina, la madera troceada hidrolizada previamente se somete a un tratamiento previo con una solución de amoniaco en etanolamina. La celulosa obtenida ha de transformarse en derivados de la celulosa.
- 55 **[0011]** Con respecto al estado actual de la técnica, viene al caso además la siguiente información ampliada: Una desventaja de los procedimientos para pasta introducidos industrialmente es con seguridad la pérdida de la reactividad a consecuencia del secado. En cambio, la, así llamada, *never-dried pulp* (pasta no secada por debajo de
- 60
- 65

un 30% de humedad tras la digestión y el blanqueo) es altamente reactiva. Para la transformación química, la forma en fibras presente tras la digestión – no secada – sería mucho más adecuada.

[0012] En los procesos *steam-explosion*, según el estado actual de la técnica son habituales presiones a partir de 20 bares para sobrepasar las temperaturas de reblandecimiento de la lignina y de los polisacáridos. Las altas temperaturas del vapor, de más de 200° C, asociadas a estas altas presiones causan por una parte una fuerte degradación de cadena de la celulosa y llevan por otra parte a una condensación de la lignina, lo que tiene como consecuencia una mala extracción. Una penetración del vapor en zonas cristalinas de la estructura lignocelulósica es improbable; en este sentido no es posible realizar modificaciones en las mismas. En el caso de la *steam-explosion*, el estado actual de la técnica está registrado en un gran número de patentes, que más que nada se refieren al diseño técnico y a los modos de proceder fundamentales. La mayoría de los estudios se han llevado a cabo con madera como materia prima. En la mayoría de los casos, la atención se ha centrado en la optimización del factor de intensidad (integral del producto de la temperatura del vapor y el tiempo de acción).

[0013] Una desventaja de la utilización de vapor de agua es que no es posible aportar aditivos en el vapor, o sólo es posible aportarlos con un gran gasto técnico. Más bien se ha de poner la biomasa antes de la *steam-explosion* en contacto con las sustancias a emplear, lo que por lo general lleva asociada una mala distribución o una mayor dosificación. Esto es válido también análogamente para el proceso *steam-refining* (procedimiento de digestión por vapor con un desfibrado mecánico subsiguiente), que trabaja con vapor a menor presión (10 - 15 bares) y utiliza dispositivos mecánicos para el desfibrado. El único procedimiento de digestión de pasta que puede hacerse funcionar totalmente de manera continua, realizado a escala industrial, lo constituye la *steam-explosion* de madera troceada u otras biomásas con el Stake System II de la firma StakeTech Stake Technology.

[0014] En conexión con el *pulping* (digestión de pasta), el estado actual de la técnica comprende dos aplicaciones diferentes de amoniaco: desfibrado de material lignocelulósico utilizando amoniaco para la plastificación a temperatura elevada mediante una descompresión explosiva (J. J. O'Connor Tappi 55(3), (1972) 353-358) y plastificación de madera troceada en un refinador Asplund bajo presión con amoniaco: el desfibrado de la madera requería un aporte de energía considerablemente menor (R. C. Peterson and R.W. Strauss J. Polymer Sci. C36 (1971) 241-250). En ninguno de los dos casos fue posible eliminar lignina en gran medida.

[0015] La utilización de alcanolaminas para eliminar lignina de las lignocelulosas fue descrita por primera vez por Elton Fisher y R.S. Bower (J. Am. Chem. Soc. 63 (1941) 1881-1883). En los años setenta se procesó monoetanolamina como aditivo para sosa cáustica para la desintegración de madera (palabras clave: alkaline pulping in aqueous alcohols and amines, acceleration of soda delignification, sulfur free delignification). Con ello se pretendía hacer posible disminuir o incluso sustituir las sustancias químicas sulfurosas.

[0016] La reelaboración de las sustancias químicas de digestión sosa cáustica y etanolamina y la separación de la lignina constituían un problema. Habitualmente se obtiene lignina a partir de sosa cáustica mediante una precipitación bajo adición de ácido. La obtención de lignina a partir de la solución sosa cáustica/alcanolamina por este medio seguramente no habría facilitado la reelaboración y recuperación de las sustancias químicas de digestión. Además, la combustión habitual de la lignina en el NaOH tras el espesamiento como primer paso de la recuperación de NaOH llevaría a la pérdida de la alcanolamina, lo que tendría asociado un coste considerable.

[0017] Por consiguiente, la invención tiene el objetivo de poner a disposición un procedimiento para el fraccionamiento de biomasa con contenido en lignocelulosa, en el que se hayan subsanado en gran parte las desventajas del estado actual de la técnica mencionadas. Deben obtenerse los componentes lignina por una parte y hemicelulosa/celulosa por otra parte en una forma lo menos impurificada posible y separados uno de otro, para así poner a disposición la transformación de estas materias primas. Con ello ha de proporcionarse un procedimiento para la desintegración de madera sin azufre y sin cloro, que además trabaje sin sosa cáustica y por lo tanto pueda prescindir de costosos procedimientos de recuperación, depuración de aire evacuado y depuración de aguas residuales. En particular, la obtención de celulosa para fines químicos debe poner llevarse a cabo en una unidad descentralizada pequeña de un modo que ahorre tiempo, sustancias químicas y energía. La celulosa/hemicelulosa así formada debe convertirse en primer lugar en azúcar y a continuación en bioetanol. Como resultado debe, por consiguiente, ponerse a disposición un procedimiento muy ventajoso para la producción de bioetanol mediante un procedimiento del estado actual de la técnica modificado para la obtención de hemicelulosa y celulosa reactiva a partir de biomasa lignocelulósica.

[0018] Según la invención, este objetivo se logra mediante un procedimiento para producir bioetanol separando lignina de una biomasa lignocelulósica triturada, en el que la biomasa triturada se trata con una alcanolamina que no está sustituida por grupos alquilo en el nitrógeno, se extrae la lignina y se separa la solución de la lignina, y el residuo con contenido en celulosa/hemicelulosa resultante se transforma, sin secado, en azúcares y los azúcares se fermentan para obtener etanol, caracterizado porque la biomasa lignocelulósica triturada se trata con una alcanolamina para extraer la lignina contenida en la misma, realizándose antes de la extracción un tratamiento de la biomasa lignocelulósica con una solución de amoniaco en etanolamina.

[0019] De las reivindicaciones anexas 2 a 15 se desprenden configuraciones ventajosas de este procedimiento.

[0020] El procedimiento según la invención permite digerir lignocelulosas y descomponerlas en sus componentes y a continuación someter el residuo con alcanolamina a una extracción bajo obtención de una materia prima de celulosa (celulosa/hemicelulosa).

[0021] Para la técnica según la invención pueden emplearse todos los tipos de lignocelulosa, es decir el fraccionamiento en los componentes esenciales celulosa, polisacáridos y lignina. Como biomasa con contenido en lignocelulosa resultan adecuados materiales de crecimiento vegetal de los más diversos tipos, como madera, cáscaras de avena, tallos de maíz y de centeno, bagazo, y paja de todo tipo, como paja de trigo, de arroz, de avena,

de centeno y de maíz. En el caso de las materias primas fibrosas, como las plantas anuales, resultan adecuadas las fibras trituradas mediante corte.

[0022] A continuación puede realizarse un tratamiento opcional con amoníaco. Éste puede llevarse a cabo en cualquier punto adecuado, tras el paso de lavado mencionado, con una solución acuosa de amoníaco, con gas amoniacal o con amoníaco líquido. La relación de masa del amoníaco líquido con respecto a la masa a tratar (en

relación con la materia seca) se ajusta con preferencia a una relación entre aproximadamente 0,1:1 y 4:1.

[0023] Como alcanolamina entran en consideración todas las alcanolaminas no sustituidas por grupos alquilo en el nitrógeno. Así, quedan excluidas por ejemplo: N-metil-monoetanolamina y N,N-dimetil-monoetanolamina, ya que éstas no muestran efecto alguno en la extracción de la lignina de la madera.

[0024] Como agente de extracción se emplea preferentemente monoetanolamina, que puede emplearse en forma precalentada, en particular al menos a aproximadamente 80° C. Se ha comprobado aquí que el efecto de extracción de la biomasa lignocelulósica sin tratamiento previo en relación con la biomasa lignocelulósica tratada previamente con amoníaco aumenta claramente. En las mismas condiciones de extracción, el contenido en lignina del extracto es en la biomasa tratada con amoníaco aproximadamente un 60% mayor que en la biomasa no tratada.

[0025] La extracción según la invención se realiza preferentemente bajo presión, es decir en una autoclave adecuada o un extractor continuo. Mediante una extracción bajo presión atmosférica pueden, por ejemplo en el caso de la paja, lograrse resultados igual de buenos.

[0026] En el régimen por lotes, es decir en un autoclave, la biomasa lavada para eliminar hemicelulosas, en caso dado triturada y tratada de manera previa adecuadamente con amoníaco, se calienta con el agua contenida en el mismo, el o los agentes de extracción, preferentemente durante al menos 10 minutos, en particular durante al menos ½ hora, a una temperatura de aproximadamente 80° C a 150° C, en particular de 100° C a 140° C. En este proceso pueden también estar ya presentes disolventes para los componentes de degradación de lignina formados.

[0027] Se prefiere una extracción continua a un modo de servicio por lotes. Esta puede realizarse haciendo que el agente de extracción precalentado circule por la biomasa lignocelulósica cargada en un reactor a presión o conduciendo el material a extraer, la biomasa lignocelulósica, en contracorriente con respecto al agente de extracción. En comparación con la autoclave, o sea el servicio estacionario, ambas variantes tienen la ventaja de que, debido a la evacuación de los productos de degradación con el agente de extracción, quedan excluidas en gran parte las reacciones secundarias. Además, lográndose un efecto de extracción igual, puede trabajarse con una menor relación de baño de agente de extracción con respecto a biomasa lignocelulósica y a una menor temperatura.

La solubilidad de lignina organosolv en monoetanolamina es aquí relativamente alta (250 g/litro).

[0028] En una forma de realización preferida según la invención, la extracción se lleva a cabo en varias etapas, es decir en, al menos, dos extracciones sucesivas con alcanolamina. Para ello se emplea preferentemente la misma cantidad total de alcanolamina que en una extracción de una sola etapa. En este contexto puede realizarse eficazmente una extracción por contracorriente, ya que así se logran los tiempos de extracción más cortos.

[0029] La monoetanolamina (en lo que sigue abreviada como: MEA) presenta distintas ventajas como agente de extracción. En la digestión, la MEA impide la condensación de lignina y el injerto en celulosa, protege la celulosa contra la degradación DP y mejora la des-lignificación.

[0030] La extracción por alcanolamina puede llevarse a cabo a bajas temperaturas (aproximadamente 100 a 120° C), en particular si se efectúa un tratamiento previo con amoníaco. A pesar de las bajas temperaturas, se obtienen entonces índices kappa bajos. Además se contienen en gran medida las reacciones secundarias.

[0031] Tras la etapa de extracción se obtiene la materia prima de celulosa (celulosa/hemicelulosa). Para ello se separa adecuadamente el extracto de lignina, de un intenso color entre marrón oscuro y negro, de las fibras de celulosa en bruto según los procedimientos habituales para la separación sólido/líquido. Si se desea eliminar por completo los restos de lignina modificada por el proceso aún remanentes en la materia prima de celulosa, esta lignina puede extraerse con un disolvente adecuado mediante un lavado o un lavado por contracorriente. El disolvente utilizado para ello se separa a continuación de la lignina y del agente de extracción mediante destilación, con lo que se recupera y está de nuevo a disposición.

[0032] El residuo tras la separación por destilación del disolvente puede además juntarse con el extracto separado de las fibras. De aquí se separan mediante destilación, preferentemente destilación en vacío, agua y la alcanolamina que sirve de agente de extracción. En este contexto también resultan adecuados otros procesos de separación que, conforme a lo deseado, lleven a una concentración del extracto de lignina, en un caso límite hasta la materia seca. También es posible separar la lignina añadiendo un no disolvente a la solución de la lignina en alcanolamina. Con ello, la lignina se precipita en forma de partículas sólidas y puede separarse del agente de extracción alcanolamina mediante un proceso de separación sólido/líquido adecuado, como filtración, centrifugación, evaporación de película delgada o procedimientos de separación por membrana. La separación de la lignina puede realizarse por ejemplo introduciendo CO₂ en el extracto de lignina/alcanolamina diluido con agua o mejor con el agua de lavado tras la extracción de la alcanolamina y en caso dado concentrado. Mediante la concentración por medio de una evaporación de película delgada u otro método de destilación adecuado se recupera una gran parte de la alcanolamina en forma pura. El resto de la alcanolamina se destila una vez separada por destilación el agua del líquido de precipitación después de separar la lignina (también en vacío). Así pues, la precipitación de la lignina puede realizarse introduciendo CO₂ y centrifugando. El compuesto de adición alcanolamina*CO₂ que se forma con el CO₂ puede descomponerse de nuevo por completo en alcanolamina y CO₂ por medios térmicos o inyectando vapor. El residuo consiste en lignina no modificada químicamente en gran medida y fuertemente degradada en su masa molar. Ésta puede por lo tanto reutilizarse como materia prima química, por ejemplo para la producción de

[0033] La pasta en bruto presenta un índice kappa máximo de aproximadamente 20, con preferencia inferior a aproximadamente 10. Esto corresponde a un contenido en lignina de < 3 % en peso o < 1,5 % en peso y constituye un comienzo ventajoso en la sacarificación enzimática de la pasta en bruto.

[0034] En la práctica puede utilizarse un, así llamado, "inclined screw reactor (reactor helicoidal inclinado)". Se prefiere por ejemplo la utilización de un "inclined screw reactor" para el tratamiento previo con NH₄OH/alcanolamina y entonces un desfibrado, antes mencionado, para extraer a fondo la lignina en forma de una extracción por contracorriente. Estos dos pasos dan como resultado, en el primer caso, una fracción con poco contenido en lignina y rica en agua que puede emplearse repetidas veces, concentrándose la lignina, y, en el segundo caso, una fracción con mucho contenido en lignina y rica en alcanolamina. La reunión de las dos fracciones en una relación de rica en agua/rica en alcanolamina ~2/1 permite precipitar la lignina mediante CO₂ a temperatura elevada. De la fracción rica en alcanolamina y pobre en agua sólo es necesario separar por destilación un poco de agua para entonces, por ejemplo mediante una evaporación de película delgada, poder recuperar la mayor parte de la alcanolamina y al mismo tiempo aumentar la concentración de lignina en más de un 20%.

[0035] La invención lleva asociadas múltiples ventajas:

[0036] Una ventaja consiste en primer lugar en que no se utilizan sustancias químicas con contenido en azufre para la digestión.

[0037] Si se emplea como material de partida paja de cereales, como ya se ha mencionado más arriba, se suprime la clásica recuperación costosa y de varias etapas necesaria en el caso del NaOH o la oxidación húmeda. En el caso de la alcanolamina, la recuperación consiste en una simple destilación en vacío. El compuesto de adición alcanolamina*CO₂ que se forma con el CO₂ puede descomponerse de nuevo por completo en alcanolamina y CO₂ por medios térmicos o inyectando vapor. Se suprime la necesidad de una recuperación de sales de sodio. Con el bajo contenido en agua de la paja, la extracción de alcanolamina puede llevarse a cabo también sin presión, lo que permite utilizar aparatos sencillos.

[0038] Además, la invención permite la extracción con una alcanolamina en relaciones de baño mucho menores (aproximadamente 3:1), especialmente en el caso del régimen continuo. Esto repercute positivamente en el consumo de vapor en la extracción y recuperación (aproximadamente entre 3:1 y 1:1), a diferencia de los procedimientos de digestión clásicos.

[0039] Si se recupera el agente de extracción alcanolamina, pueden hacerse funcionar unidades pequeñas y descentralizadas para la producción de pasta en bruto en condiciones económicas óptimas. Por consiguiente, la utilización de alcanolaminas como agente de extracción resulta ventajosa desde dos puntos de vista: con el calor de evaporación propio de estas sustancias, la recuperación mediante destilación no consume mucha energía. La separación de la lignina puede llevarse a cabo sin utilizar ácidos, lo que también evita costosos procesos de reelaboración y protege el medio ambiente.

[0040] Tampoco se necesitan aditivos para impedir la condensación de la lignina, lo que ahorra gastos. Dado que puede prescindirse de un tratamiento previo con sustancias químicas, como sería necesario en caso de emplearse exclusivamente procedimientos de tipo *steam-explosion (explosión de vapor)* y *steam-refining [refino de vapor]*, no existen problemas con su distribución.

[0041] Además, tras la extracción con alcanolamina, las pastas en bruto presentan una des-cristalización elevada en relación con otros procesos. Esto es sin duda alguna muy favorable para la transformación en bioetanol, dado que de este modo se consigue una accesibilidad uniforme para las enzimas para la producción de los azúcares. La posibilidad de utilizar amoniaco en una cantidad mucho menor que en la pura explosión amoniaco de biomasa repercute también favorablemente en los gastos de explotación. Puede prescindirse de una costosa recuperación de amoniaco líquido.

[0042] Dado que el gasto de tiempo para la sacarificación es naturalmente tanto menor cuanto menores sean los índices kappa (los contenidos en lignina) tras la extracción, en el procedimiento de la invención se presentan también condiciones previas favorables. Por consiguiente, como consecuencia de un régimen totalmente continuo, las inversiones específicas son bajas y los rendimientos espacio/tiempo altos. Pueden utilizarse componentes de instalaciones sencillos y disponibles comercialmente. Esto permite una explotación rentable ya con instalaciones de pequeño tamaño. Además, en el caso de la recuperación de la alcanolamina puede cerrarse el circuito. De este modo, el gasto para la concentración es menor, se consume menos agua y el gasto de energía en la destilación es menor.

[0043] Si en el procedimiento según la invención se elige una extracción por alcanolamina de varias etapas o una continua en lugar de una de una sola etapa, estas alternativas ofrecen ventajas adicionales con respecto a la eficacia y la productividad del control de proceso.

[0044] Un control de proceso continuo tiene además ventajas: Se suprime el desalojamiento de un líquido de proceso por otro, como es necesario en los digestores en la tecnología de *pulping* (reducción a pulpa) clásica. En los digestores, los procesos de cambio y lavado son menos eficaces y requieren un tiempo relativamente largo. Además, en la práctica, la precisión de separación en el desalojamiento es tal que se producen mezclas no deseadas o transiciones poco precisas, de manera que se hace necesario un gasto adicional en la recuperación. En un procedimiento continuo se hace posible emplear aparatos que no han de estar diseñados para altas presiones.

[0045] Como se ha explicado más arriba, según la invención se transforma una biomasa lignocelulósica ventajosamente en celulosa/hemicelulosa con una capacidad reactiva particularmente favorable. En el marco de la invención, este producto del procedimiento se convierte por métodos del ramo en azúcares y éstas se fermentan para obtener bioetanol. Estos conocimientos técnicos se explican a continuación:

[0046] La degradación de sustancias celulósicas, aquí en el marco de la invención celulosa/hemicelulosa de la que se ha eliminado la lignina, se realiza mediante celulasas. Esta denominación se refiere en cualquier caso más bien a

una mezcla de enzimas que a una sola enzima. Las celulasas las producen microbios como bacterias y hongos. Como ejemplo puede mencionarse el *Trichoderma*. Los componentes principales de las celulasas son las β -1,4-gluconasas, que provocan la reacción primaria de la disociación hidrolítica de los enlaces β -1,4-glicosídicos entre las unidades de anhidroglucosa en la cadena de la celulosa.

5 **[0047]** Existen dos tipos de enzimas de acción hidrolítica: 1) las endoenzimas (endo- β -1,4-gluconasas), que causan la disociación de enlaces glicosídicos en diferentes puntos de la molécula de celulosa formando mezclas oligoméricas de fragmentos de cadena, y 2) las exoenzimas (exo- β -1,4-gluconasas), que disocian enlaces glicosídicos en las moléculas de celulosa en puntos situados en las proximidades de los extremos de cadena no reductores, con lo que se forman fragmentos de bajo peso molecular, principalmente celobiosa o glucosa. Además
10 existen sistemas enzimáticos de acción oxidativa, denominados en general glucoxidasas. Su papel en la degradación enzimática aún se halla en discusión. P. Finch y J.C. Roberts (1985), en "Enzymatic degradation of cellulose" en: *Cellulose Chemistry and its Application* (Ed.: Nevell, T.P., y Zeronian, S.H.), capítulo 13, p. 312) Ellis Horwood Ltd, Chichester, presentan aclaraciones conceptuales más amplias y una clasificación sumaria de las enzimas implicadas en la degradación enzimática de celulosa.

15 **[0048]** La fermentación de los azúcares, en particular azúcares de hexosa, se lleva a cabo por lo general con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, la de las pentosas (xilosa) con el hongo *Fusarium spec*. En el caso de cultivos mixtos para hidrólisis y fermentación de xilosa se emplean dos bacterias termófilas anaerobias: *Clostridium thermocellum* y *Thermoanaerobacter ethanolicus*, en presencia de material celulósico. En la hidrólisis enzimática industrial se producen in situ las enzimas, por ejemplo *Z. mobilis*. La hidrólisis enzimática y la fermentación se llevan
20 a cabo preferentemente en un paso, la, así llamada, *simultaneous saccharification and fermentation* [fermentación y sacarificación simultánea] (SSF).

[0049] Sin embargo, en este contexto es siempre válido el hecho de que un tratamiento previo eficaz, como el tratamiento previo con amoníaco en MEA, constituye un paso esencial para la eficacia y la duración de la hidrólisis enzimática.

25 **[0050]** Durante el descubrimiento de la presente invención, los inventores adquirieron distintos conocimientos, que en su explicación facilitan la comprensión de la presente invención. A este respecto, en detalle:

[0051] El tratamiento previo con alcanolamina, en particular monoetanolamina (MEA), de biomasa lignocelulósica no conoce muchas de las desventajas del estado actual de la técnica descrito. La monoetanolamina puede degradar y disolver específicamente lignina. En cambio, sobre los polisacáridos, es decir celulosa/hemicelulosa, ejerce un efecto protector, ya que no degrada las cadenas de polisacáridos (*peeling reaction*) como otros álcalis (por ejemplo sosa cáustica). Además de la completa eliminación de la lignina, la MEA tiene un efecto de hinchado en la celulosa y las hemicelulosas. Así, por ejemplo, se reducen el grado de fibrilación y los tamaños de cristalita, con lo que se producen espacios intermedios mayores y una mayor proporción de superficie accesible. Esto se ha comprobado mediante mediciones de la capacidad de retención de agua y ácido acético. Se aumenta la proporción de estructuras
35 amorfas, lo que se ha comprobado mediante difracción de rayos X.

[0052] El poder de retención de disolvente como medida de la accesibilidad es para la MEA de un 108 %, para el agua de un 51 %. Como es sabido, las aminas pueden des-cristalizar sustratos celulósicos. Un tratamiento con etilamina aumenta la proporción de celulosa desordenada (des-cristalizada) de un 9 % a un 70 %. Un factor importante para el efecto de des-cristalización es el, así llamado, valor pKa, que es una medida de la basicidad. Ésta a su vez es importante para romper los enlaces por puentes de hidrógeno. En concentraciones de más de un 50% en agua, la MEA tiene un valor pH de 12,5. Tras un tratamiento previo con MEA es posible eliminar con agua caliente casi cuantitativamente la lignina disuelta en MEA. Al mismo tiempo se conserva el hinchamiento de la celulosa y las hemicelulosas causado por el tratamiento previo con MEA. El hinchamiento se realiza de manera intrafibrilar, es decir en las fibrillas cristalinas de celulosa, y también interfibrilar. Un ejemplo de un hinchamiento intracristalino eficaz es el tratamiento de celulosa con amoníaco líquido. El amoníaco penetra en las zonas cristalinas, con lo que se aumenta la distancia entre los niveles 101 de la red cristalina.

[0053] El grado de accesibilidad puede determinarse también mediante la absorción de yodo por parte de las muestras, que se han sometido a tratamientos previos diferentes. El tamaño de las moléculas de yodo limita su absorción a las zonas amorfas de la muestra. De este modo, el grado de la absorción de yodo es directamente proporcional al porcentaje de zonas amorfas. La celulosa sin tratar absorbe normalmente ~ 50 mg iodo/g de muestra, lo que corresponde aproximadamente a un porcentaje de un 15% de fase amorfa (determinado a partir de mediciones de difracción de rayos X del carácter cristalino de la misma muestra). Una muestra de biomasa tratada con amoníaco gaseoso, una hinchada con amoníaco líquido y por último una des-lignificada con MEA presentan 125, 160 y 230 mg de yodo absorbido/g de muestra respectivamente. Por consiguiente, la accesibilidad para las enzimas en la muestra des-lignificada con MEA es aproximadamente 4,6 veces mayor que en la pasta no tratada, o el porcentaje de zonas amorfas fácilmente accesibles es de $15 \cdot 4,6 \sim 70$ %.

[0054] La capacidad de enlace por puentes de hidrógeno de las especies que interactúan con la celulosa tiene un papel destacado. Puede provocarse un hinchamiento particularmente intenso mediante líquidos que sean aceptores de protones no asociados. Como ejemplos pueden mencionarse el amoníaco (pKa = 9,25), la metilamina (pKa = 10,69), la etilamina (pKa = 10,81) y la monoetanolamina (pKa = 9,5). Así pues, la MEA tiene un valor pKa cercano al del amoníaco.

[0055] Las soluciones de amoníaco en etanolamina pueden no sólo hinchar la celulosa bajo modificaciones estructurales, sino también ensanchar aun más la red de la celulosa ensanchada mediante amoníaco. Así, la capacidad de retención de agua (WRV) de la celulosa en agua con un 10 % de amoníaco es como máximo de un 50 %
65 %. En cambio, con un 10 % de amoníaco en MEA la WRV aumenta hasta un 115 %. De ello se deduce que la MEA favorece la penetración del amoníaco en la red de celulosa y la red de celulosa hinchada por el amoníaco se hincha

aun más. La conclusión es que pequeñas cantidades de amoníaco en MEA resultan ventajosas. Esto afecta no sólo a la accesibilidad elevada para las enzimas, sino también al efecto neutralizador del amoníaco en los grupos ácidos enlazados en las lignocelulosas (radicales acetilo, urónico y formilo).

[0056] Las ventajas del tratamiento según la invención de biomasa lignocelulósica son por lo tanto múltiples.

Puede evitarse la separación de sales, ya que no se emplea ningún ácido. No es necesario eliminar inhibidores enzimáticos mediante intercambio de iones antes de la hidrólisis enzimática. Se elimina de la biomasa más de un 95 % de la lignina. Esta lignina es una lignina *organosolv*, similar a la lignina que puede obtenerse con el procedimiento Acell, y puede utilizarse para la generación de vapor y subsiguiente generación de corriente. Debido a la consistencia alquitranosa de la lignina liberada mediante destilación, no se requieren costosas calderas de biomasa para la generación de vapor. Como alternativa, la lignina puede precipitarse y luego venderse para la producción de polímeros, abonos de efecto lento, etc. Para la precipitación de la lignina puede utilizarse ventajosamente el dióxido de carbono que se forma en grandes cantidades en la fermentación de los azúcares para obtener etanol. En este sentido se cumple, mediante el procedimiento de tratamiento previo con amoníaco en MEA, una exigencia: producir un subproducto de alta calidad. La separación de la lignina ofrece, en comparación con otros procedimientos, la ventaja de una velocidad de reacción enzimática mayor en un factor de 3 - 5.

[0057] Además, gracias a la separación de la parte de lignina de la biomasa, que supone aproximadamente un 18 - 25 % en peso, es posible diseñar los aparatos con un tamaño correspondientemente menor. A esto se añade el hecho de que, después del lavado para eliminar la lignina y la monoetanolamina, el contenido en sólidos de las fibras des-lignificadas es de aproximadamente un 40 - 45 %, lo que también puede contribuir a reducir la capacidad del reactor de enzimas. Este factor repercute decisivamente de un modo muy positivo en los gastos de producción del bioetanol.

[0058] Por último, puede constatarse que el procedimiento de tratamiento previo con amoníaco en MEA según la invención cumple la exigencia "low energy, high yield, nodetox [energía baja, rendimiento alto, sin limpieza]", que en la producción industrial de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica constituye una máxima.

Ejemplo 1 (no según la invención)

[0059] Una biomasa que se ha tratado con etanolamina y de la que a continuación se han eliminado la lignina y la etanolamina con agua caliente se vierte en una botella que contiene 50 ml de tampón citrato (valor pH 4,5), de manera que la concentración sea de un 2 % en peso. La botella se trata en una autoclave a 120° C. Se añaden 2 ml de celulasa (3 - 4 IU/g de biomasa tratada previamente). La hidrólisis se lleva a cabo a una temperatura constante de 50° C en un baño de agua, agitando la botella. Los azúcares se analizan mediante HPLC (cromatografía líquida de alta resolución). Después de 36 horas, la transformación en glucosa y xilosa alcanza un valor constante. Los rendimientos para la glucosa y la xilosa son de un 90 % y un 85 % respectivamente. A continuación se somete a mezcla obtenida a una fermentación usual.

[0060] Para la fermentación se utilizó la bacteria *Z. mobilis*, añadiendo fosfato diamónico. Este biocatalizador convierte la glucosa y la xilosa en etanol. El rendimiento en etanol a partir de la glucosa fue de un 90% y el rendimiento a partir de la xilosa de un 85%.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento para producir bioetanol separando lignina de una biomasa lignocelulósica triturada, en el que la biomasa lignocelulósica triturada se trata con una alcanolamina que no está sustituida por grupos alquilo en el nitrógeno, se extrae la lignina y se separa la solución de la lignina, y el residuo con contenido en celulosa/hemicelulosa resultante se transforma, sin secado, en azúcares y los azúcares se fermentan para obtener etanol, caracterizado por que la biomasa lignocelulósica triturada se trata con la alcanolamina para extraer la lignina contenida en la misma, realizándose antes de la extracción un tratamiento de la biomasa lignocelulósica con una solución de amoniaco en etanolamina.
- 10 2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que como biomasa lignocelulósica se emplean paja de cereales, gramíneas, bagazo, álamo y bambú.
- 15 3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que en la extracción de la lignina se utiliza adicionalmente otro disolvente para lignina.
- 20 4. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que para el tratamiento previo con amoniaco se utiliza gas amoniacal o una solución acuosa de amoniaco.
- 25 5. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que la extracción se lleva a cabo al menos durante media hora a una temperatura de 80° C a 150° C.
6. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que la alcanolamina se calienta hasta una temperatura de al menos aproximadamente 80° C antes de la extracción.
- 30 7. Procedimiento según al menos una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que como alcanolamina se emplea monoetanolamina.
8. Procedimiento según al menos una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que, tras la extracción de la lignina, se elimina mediante un disolvente adicional la solución del resto de lignina adherida al residuo.
- 35 9. Procedimiento según la reivindicación 8, caracterizado por que, tras la extracción, se elimina mediante lavado o lavado por contracorriente con el disolvente adicional la solución del resto de lignina adherida al residuo, a continuación se separan de la lignina mediante destilación el disolvente adicional y el agente de extracción alcanolamina y se recupera la alcanolamina para nueva utilización.
- 40 10. Procedimiento según al menos una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por que, tras la extracción, se elimina del residuo mediante presión o centrifugación la solución del resto de lignina adherida al mismo.
- 45 11. Procedimiento según al menos una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que la lignina disuelta en alcanolamina se precipita mediante la adición de un no disolvente y se separa mediante procesos de separación sólido/líquido.
12. Procedimiento según la reivindicación 11, caracterizado por que la lignina precipitada se separa de la alcanolamina mediante filtración o centrifugación.
- 50 13. Procedimiento según al menos una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado **por que** la lignina disuelta en alcanolamina se separa en un evaporador de película delgada o mediante un proceso de membrana.
- 55 14. Procedimiento según al menos una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el producto intermedio húmedo que contiene celulosa y en caso dado hemicelulosa se transforma en azúcares mediante una hidrólisis enzimática.
15. Procedimiento según al menos una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que los azúcares obtenidos a partir de celulosa y en caso dado a partir de hemicelulosas se fermentan para obtener bioalcohol por el método de mezclarlos y fermentarlos con levaduras.

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

5 La lista de referencias citada por el solicitante lo es solamente para utilidad del lector, no formando parte de los documentos de patente europeos. Aún cuando las referencias han sido cuidadosamente recopiladas, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP rechaza toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citado en la descripción

- WO 0061858 A [0010]

10 Bibliografía no de patentes citada en la descripción

- **NATHAN MOSSIER et al.** *Bioresource technology*, 2005, vol. 96, 673-686 [0004]
- kommen in Ihrer Monographie „wood. D **FENGEL ; G.WEGENER.** Chemistry, Ultrastructure, Reactions. De Gruyter, 1989 [0004]
- **SHAH, M.M. et al.** Effect of Pretreatment on Simultaneous Saccharification and Fermentation of Hardwood into Acetone/Butanol. *APPLIED BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY*, 1991, vol. 28 (29), 99-110 [0009]
- **J. J. O'CONNOR.** *Tappi*, 1972, vol. 55 (3), 353-358 [0014]
- **R.C. PETERSON ; R.W. STRAUSS. J.** *Polymer Sci.*, 1971, vol. 36, 241-250 [0014]
- **ELTON FISHER ; R.S. BOWER.** *J. Am. Chem. Soc.*, 1941, vol. 63, 1881-1883 [0015]
- Enzymatic degradation of cellulose. **P. FINCH ; J.C. ROBERTS.** Cellulose Chemistry and its Application. Ellis Horwood Ltd, 1985, 312 [0047]