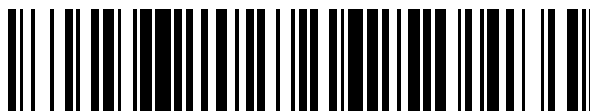


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 641 314**

51 Int. Cl.:

C07G 1/00 (2011.01)

C08J 3/03 (2006.01)

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: **26.11.2012 PCT/EP2012/073574**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.06.2013 WO13079431**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2012 E 12790909 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.06.2017 EP 2785728**

54 Título: **Procedimiento para la obtención de lignina de bajo peso molecular (NML)**

30 Prioridad:

28.11.2011 EP 11190969

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

08.11.2017

73 Titular/es:

**ANNIKKI GMBH (100.0%)
Rankengasse 28a
8020 Graz, AT**

72 Inventor/es:

**TERS, THOMAS;
FACKLER, KARIN;
MESSNER, KURT y
ERTL, ORTWIN**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 641 314 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 la obtención de lignina de bajo peso molecular (NML)

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención de NML a partir de material lignocelulósico mediante extracción alcalina y su conversión en resina o plástico.

10 En relación con la escasez de aceite crudo gana mucha importancia la materia prima renovable lignocelulosa (paja, madera, desechos de papel, etc.) como material de partida para productos químicos y combustibles. La lignocelulosa está constituida por los componentes principales poliméricos reticulados de manera ultraestructural celulosa, hemicelulosa y lignina, que constituyen con frecuencia aproximadamente el 85 - 90 % de la materia prima.

15 La disociación de los componentes que se encuentran como polímeros y su separación en flujos de producto individuales así como su procesamiento posterior para dar productos de más alta calidad es el objetivo de las biorefinerías de la plataforma bioquímica. La rentabilidad de tales biorefinerías depende en gran parte de que pueda conseguirse valor añadido de los flujos de producto. Esto se ve influido a su vez de manera masiva por la pureza y las propiedades de los flujos de producto individuales, dado que los procesos de separación conectados posteriormente pueden ser difíciles y costosos. Puede considerarse como ideal, por tanto, un procedimiento en el que la disociación de los componentes principales individuales se realiza a ser posible de manera selectiva. Para
20 este fin es ventajoso colocar la etapa de la extracción de NML al inicio del procedimiento de biorefinería.

25 La lignina gana mucha importancia económica como sustituto de compuestos aromáticos generados de manera petroquímica. Las posibilidades de uso de la lignina obtenida están a su vez muy determinadas por su composición fija, sobre todo sin embargo por el peso molecular de la fracción de lignina obtenida. Dependiendo del proceso de preparación pueden presentar las ligninas propiedades sumamente diferentes.

30 Mediante el proceso Lignoboost desarrollado últimamente (*P. Tomani, 2009, The Lignoboost Process, NWBC-2009 The 2nd Nordic Wood Biorefinery Conference, Helsinki, Finlandia, septiembre 2-4, 2009, 181-188.*) puede separarse y usarse comercialmente lignina a partir de la lejía espesa del desfibrado mecánico. Adicionalmente se produce debido a ello una descarga de la caldera de recuperación lo que permite un aumento de la capacidad de la fábrica de celulosa. La sulfatolignina que se produce a este respecto está en parte altamente condensada mediante reacciones de repolimerización en el transcurso de la cocción, contiene además aprox. el 2 % de azufre en forma de grupos tiol y es muy adecuada para el aprovechamiento térmico. Su campo de aplicación como materia prima química está muy limitada sin embargo por el olor originado por los grupos tiol. Del proceso de sulfito tradicional
35 pueden obtenerse liginosulfonatos que pueden usarse en determinadas aplicaciones debido a su solubilidad en agua. Es desventajoso en las dos ligninas el contenido en azufre.

40 Para aplicaciones en la preparación de plásticos y resinas se demandan, sin embargo, en particular fracciones de lignina de bajo peso molecular, libre de azufre, preferentemente con un alto grado de pureza.

45 Las ligninas libres de azufre proceden principalmente de procesos Organosolv, de disgregación con carbonato de sodio o de procesos de biorefinería.

Entre los procedimientos aplicados en biorefinerías para la disgregación de lignocelulosa han destacado los procedimientos especialmente alcalinos, cuyo principio de disgregación es en primer lugar la separación de la lignina. El principio químico subyacente es la hidrólisis alcalina, mediante la cual se disocia tanto el enlace entre lignina y hemicelulosa, como también los ésteres de ácido acético-hemicelulosa.

50 Un procedimiento de este tipo se describió en Avgerinos & Wang (1983), *Biotechnology and Bioengineering*, vol XXV, 67-83. Más detalladamente, en el documento US 4.395.543 se ha reivindicado un procedimiento para la disgregación de lignocelulosa, en el que se usa una solución de extracción que está constituida por agua, entre el 40 % al 75 % de alcohol y un valor de pH entre 11 y 14. Adicionalmente se desprende de la patente que con un aumento de la concentración de etanol hasta el 100 %, la cantidad de la lignina liberada se aproxima a cero. Además se describe que con un aumento de la concentración de alcohol hasta el 100 % también la cantidad de los
55 azúcares liberados se aproxima a cero. El peso molecular de las ligninas liberadas a este respecto no se describe.

60 Sorprendentemente se ha mostrado en estudios propios con respecto a la disgregación alcalina con etanol que los parámetros de disgregación tienen una influencia decisiva no sólo sobre la cantidad de la lignina extraída sino también sobre su peso molecular.

Sobre todo mediante la elección de la concentración de alcohol en una solución alcalina acuosa puede obtenerse NML de manera selectiva a partir de material lignocelulósico, por ejemplo lignocelulosas, o bien puede verse influido el tamaño molecular de la lignina extraída, habiendo resultado sorprendentemente que una NML libre de azufre preparada de esta manera es especialmente muy adecuada para la conversión en resina o plástico.

65

En un aspecto, la presente invención pone a disposición un procedimiento para la obtención de resina o plástico usando material lignocelulósico, que está caracterizado por que

- a) se trata el material lignocelulósico con una solución acuosa de extracción con un contenido en un alcohol C₁₋₄, en particular etanol o isopropanol, del 70 % v/v al 95 % v/v, en particular del 75 % v/v al 85 % v/v, con un valor de pH de 12 a 14, obteniéndose una solución acuosa de lignina de bajo peso molecular (NML), que presenta un peso molecular promedio Mw de 2000 e inferior a esto, y
- b) la lignina de bajo peso molecular obtenida de acuerdo con a) se convierte en resina o plástico.

Un procedimiento, que se facilita mediante la presente invención, se designa en el presente documento también como "procedimiento de acuerdo con (según) la presente invención".

Se encontró por ejemplo sorprendentemente que a partir de paja de trigo en una solución acuosa, alcohólica a una temperatura de 70 °C y un valor de pH de aprox. 13 puede extraerse ya tras 30 minutos aprox. el 16 % de la NML (con respecto a la lignina total), cuando el contenido en alcohol en la solución acuosa asciende al 80 % v/v. Si aumenta el contenido en alcohol en las condiciones anteriores por encima del 85 %, disminuye la cantidad de la NML que puede extraerse. La lignina obtenida presenta a este respecto sorprendentemente un peso molecular muy bajo (Mw 1340, Mn 850) con distribución del peso molecular muy estrecha (Pd 1,58).

Además se encontró que el componente extraído NML puede concentrarse mediante reciclaje múltiple de la solución de extracción sobre sustrato de lignocelulosa en cada caso fresco con dosificación previa respectiva de la solución de hidróxido de sodio consumida. Tal como se representa en el ejemplo 2, aumenta con las 6 etapas de reciclaje mostradas sorprendentemente la cantidad de la lignina de bajo peso molecular linealmente en la solución de reciclaje y no sigue una curva de saturación, tal como era de esperar. Tras 6 ciclos pudo elevarse el contenido en lignina desde 1,88 mg/ml hasta 12,25 mg/ml. El número de ciclos de extracción puede seleccionarse libremente dependiendo de la concentración final deseada y puede realizarse por ejemplo hasta la saturación del disolvente con NML.

Mediante la exitosa concentración se consigue una concentración final de NML, que hace justificable económicamente la separación de la lignina de bajo peso molecular. Además, mediante el reciclaje, se reduce drásticamente la cantidad del alcohol que va a usarse con respecto a la cantidad de biomasa tratada total.

En otro aspecto, la presente invención pone a disposición un procedimiento para la obtención de lignina de bajo peso molecular (NML), que presenta un peso molecular promedio Mw de 2000 e inferior a esto, a partir de material lignocelulósico, en particular lignocelulosa, en el que se trata el material lignocelulósico con una solución acuosa de extracción con un contenido en un alcohol C₁₋₄, en particular etanol o isopropanol, del 70 % v/v al 95 % v/v, en particular del 75 % v/v al 85 % v/v, con un valor de pH de 12 a 14, obteniéndose una primera solución acuosa de NML, caracterizado por que la primera solución acuosa de NML se usa para tratar material lignocelulósico adicional, en particular lignocelulosa, para la obtención de una segunda solución acuosa, en la que la NML está enriquecida en comparación con la primera solución acuosa; en el que eventualmente esta segunda solución acuosa, en la que está enriquecida la NML, se usa para tratar material lignocelulósico adicional, en particular lignocelulosa para la obtención de otras soluciones acuosas, en las que la NML está enriquecida en comparación con la segunda solución acuosa;

y en otro aspecto

un procedimiento para la concentración de lignina de bajo peso molecular (NML) con un peso molecular Mw de 2000 e inferior a esto en una primera solución acuosa, que se obtiene mediante el tratamiento de material lignocelulósico con una solución acuosa de extracción con un contenido en un alcohol C₁₋₄, en particular etanol o isopropanol, del 70 % v/v al 95 % v/v, en particular del 75 % v/v al 85 %, con un valor de pH de 12 a 14, caracterizado por que esta primera solución acuosa se usa para el tratamiento de material lignocelulósico adicional para la obtención de otras soluciones acuosas, en las que la NML está enriquecida en comparación con la primera solución acuosa.

Como material lignocelulósico, en particular lignocelulosa, han resultado ventajosos en particular madera de árboles frondosos, madera de coníferas, paja, bagazo o hierbas anuales y plurianuales.

En otro aspecto, la presente invención pone a disposición un procedimiento de acuerdo con la presente invención que está caracterizado por que como material lignocelulósico se usan madera de árboles frondosos, madera de coníferas, paja, bagazo o hierbas anuales y plurianuales, en particular madera de árboles frondosos, paja, bagazo o hierbas anuales y plurianuales.

Los procedimientos de acuerdo con la presente invención presentan en comparación con procedimientos conocidos una serie de ventajas.

Las ventajas de un procedimiento de acuerdo con la presente invención en comparación con procedimientos conocidos comprenden por ejemplo

- la obtención de una alta concentración de NML en la solución acuosa, alcohólica, de manera que la separación de la NML se facilita;
- una necesidad más baja de solución de extracción, en comparación con procedimientos conocidos, que está unida con la alta concentración de NML,
- 5 - la separación de NML y lignina de alto peso molecular (HML), que se produjeron conjuntamente en general en una solución de extracción según el estado de la técnica;
- el hecho de que para otras etapas de fraccionamiento para la obtención de lignina selectiva (HML) y el reciclaje de las soluciones de lignina usadas a este respecto se necesite añadir menos base (por ejemplo NaOH) que en procedimientos según el estado de la técnica, dado que se consume menos base para la disociación de ésteres;
- 10 - el hecho de que se produzcan menos sales mediante la necesidad reducida de NaOH en otras etapas de fraccionamiento;
- el hecho de que pueda usarse debido a ello la solución de lignina sobre nuevas cantidades de paja y pueda aumentar debido a ello también la concentración de lignina en solución o bien pueda reducirse la cantidad de disolventes requerida en relación con la paja;
- 15 - el hecho de que no se alteren otras etapas de extracción de lignina mediante la presencia de acetato (y otros aniones);
- el hecho de que no deba separarse aparte NML tras otra etapa de extracción de lignina, en la que se produce HML;
- la facilitación de NML libre de azufre en alta pureza para la obtención de plásticos y resinas.

20 En un procedimiento de acuerdo con la presente invención se encontró que puede obtenerse lignina de bajo peso molecular, con un Mw (peso molecular promedio) de 1300 a 1700.

25 En un procedimiento de acuerdo con la presente invención se encontró que puede obtenerse lignina de bajo peso molecular con un Mn (número molecular promedio) de 1100 e inferior a esto, por ejemplo inferior a esto, como por ejemplo con un Mn de 800 a 1050.

30 En otro aspecto, la presente invención pone a disposición un procedimiento de acuerdo con la presente invención, que está caracterizado por que la lignina de bajo peso molecular obtenida en a) presenta un Mn de 1100 e inferior a esto.

35 En un procedimiento de acuerdo con la invención se encontró que puede obtenerse lignina de bajo peso molecular con una polidispersidad de 2 e inferior a esto, por ejemplo inferior a esto, como por ejemplo con una polidispersidad de 1,3 a 1,8.

En otro aspecto, la presente invención pone a disposición un procedimiento de acuerdo con la presente invención, que está caracterizado por que la lignina de bajo peso molecular obtenida en a) presenta una polidispersidad de 2 e inferior a esto.

40 En un procedimiento de acuerdo con la presente invención se encontró que puede obtenerse lignina de bajo peso molecular con un contenido en azúcar del 2 % e inferior a esto, por ejemplo inferior a esto.

45 En otro aspecto, la presente invención pone a disposición un procedimiento de acuerdo con la presente invención, que está caracterizado por que la lignina de bajo peso molecular obtenida en a) presenta un contenido en azúcar del 2 % e inferior a esto.

Descripción de las figuras

50 La figura 1 muestra el desarrollo temporal de la concentración de lignina de la solución de extracción a 70 °C y distintos contenidos en etanol. En el eje x están representados gráficamente a este respecto los minutos (min). Las barras muestran en cada caso de izquierda a derecha la concentración de lignina en mg/ml con en cada caso una concentración de etanol del 40 % v/v (1), 60 % v/v(2), 80 % v/v (3), 90 % v/v (4), 95 % (5) v/v y 100 % v/v (6).

55 La figura 2 muestra el aumento del contenido en lignina (mg/ml) en la solución de extracción durante el reciclaje de la solución. En el eje x está representado gráficamente a este respecto el número de ciclos. Tal como es evidente a partir de la figura 2, aumenta el contenido en lignina en la solución de extracción sorprendentemente de manera prácticamente lineal con el número de ciclos.

60 En los siguientes ejemplos se describen en más detalle formas de realización preferentes de la invención. Todas las temperaturas están indicadas en ° Celsius.

Se usan las siguientes abreviaturas:

65 M_w peso molecular promedio (*molecular weight average*)
 M_n número molecular promedio (*molecular number average*)
 HPSEC cromatografía de exclusión de tamaño de alto rendimiento

P_d polidispersidad

La polidispersidad es una medida de la anchura de una distribución de masa molar (MMV). Cuanto más grande sea Q, más ancha es la MMV, representando Q la fracción de M_w entre M_n y siendo superior a 1. La distribución de masa molar designa para una determinada sustancia la distribución, concretamente la distribución proporcional de la masa molar de las moléculas contenidas.

Ejemplo 1

Desarrollo temporal de la concentración de lignina en la solución de extracción a 70 °C y distintos contenidos en etanol

Se suspendieron 10 g de paja de trigo triturada en un recipiente de reacción de 500 ml en 200 ml (5 % de proporción de sólidos) de una solución calentada previamente hasta 70 °C, que está constituida por agua/etanol en distintas proporciones (40 %, 60 %, 80 %, 90 %, 95 %, 100 % de EtOH) y 0,8 g de NaOH. La suspensión se agitó de manera magnética a 200 rpm y 70 °C durante 10, 20 o 30 minutos continuamente. Después se separó la proporción de sólidos mediante filtración. El contenido en lignina de la solución se midió fotométricamente a 280 nm ($\epsilon = 19,4 \text{ l g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y el peso molecular de la lignina disuelta se determinó a través de un sistema de HPSEC alcalino (TSKG500PW, TSK-G400PW, TSK-G300PW, Tosoh) con detección UV. Tal como puede distinguirse en la figura 1, se disuelve la mayor parte de la lignina con concentraciones de etanol entre el 40 % y el 60 % en el espacio de tiempo de ensayo de 30 minutos. Con concentraciones de etanol más altas disminuye drásticamente el rendimiento.

En el estudio de los pesos moleculares de estas fracciones ha de distinguirse que con un 40 % y 60 % de contenido en etanol en la solución de extracción es muy similar el peso molecular y la polidispersidad de la lignina extraída, sin embargo sorprendentemente a partir del 80 % de EtOH en la solución de extracción se disuelve una NML con una baja polidispersidad. Esto se desprende de la figura 2.

En la siguiente tabla 1 está representada la distribución del peso molecular de las ligninas extraídas con distintas concentraciones de etanol ($T = 70 \text{ °C}$, $t = 30 \text{ min}$):

Tabla 1

Muestra	M_w	M_n	P_d
40 % de EtOH	2290	1000	2,30
60 % de EtOH	2900	1030	2,82
80 % de EtOH	1340	850	1,58
90 % de EtOH	1330	850	1,57
95 % de EtOH	1330	850	1,57
100 % de EtOH	1370	850	1,62

Ejemplo 2

Reciclaje de la solución de NML

En este ensayo se mostrará que la solución de extracción de NML puede reciclarse para otras extracciones.

Se suspendieron 10 g de paja de trigo triturada en un recipiente de reacción de 500 ml en 200 ml (5 % de proporción de sólidos) de una solución, que está constituida por el 20 % de agua, el 80 % de etanol y 0,8 g de NaOH. La suspensión se agitó de manera magnética a 200 rpm, 70 °C durante 30 minutos continuamente. Tras la extracción se separó la solución mediante filtración del sólido, se ajustó con nuevo NaOH hasta el valor de pH de partida y se añadió paja fresca (5 % p/v).

La suspensión se trató de nuevo en las condiciones descritas anteriormente, y tras la separación del sólido se sometió a otra etapa de reciclaje.

Antes de cada etapa de reciclaje se extrajo una muestra y se determinó el contenido en lignina de la solución fotométricamente.

Tal como puede distinguirse en la figura 2, aumenta la concentración de lignina en la solución con cada etapa de reciclaje de manera relativamente lineal. A partir del sólido fresco en cada caso se separaron en promedio 1,97 mg/ml de lignina por etapa de extracción. Pueden explicarse desviaciones de estos valores mediante la variabilidad del material de extracción.

Con ayuda de HPSEC se determinó el peso molecular de la lignina después de cada ciclo. Tal como es evidente a partir de la tabla 2 a continuación, en la que están representados los pesos moleculares de la lignina en las etapas

individuales del reciclaje, se modifica el peso molecular desde la extracción 1 hasta la extracción 6 sólo en aprox. un 10 %, se extrae por tanto a pesar del reciclaje siempre sólo la NML de la matriz.

Tabla 2

Ciclos	M_w	M_n	P_d	Ciclos
1	1510	930	1,62	1
2	1490	820	1,82	2
3	1480	920	1,61	3
4	1540	950	1,62	4
5	1600	960	1,67	5
6	1660	970	1,71	6

5

Ejemplo 3

Uso de chopo como sustrato

10 Se suspendieron 10 g de chopo con desprendimiento de virutas en un recipiente de reacción de 500 ml en 200 ml (5 % de proporción de sólidos) de una solución que está constituida por el 20 % de agua, el 80 % de etanol y 0,8 g de NaOH. Para la comparación se realizó un ensayo sin etanol con una concentración de NaOH de 1 g/l. Ambas suspensiones se agitaron de manera magnética a 200 rpm, 70 °C durante 18 horas continuamente. Tras el
15 tratamiento se separaron las soluciones mediante filtración del sólido y se determinó el peso molecular de la lignina extraída por medio de HPSEC.

Tal como es evidente a partir de la tabla 3 a continuación, en la que están representados los pesos moleculares de las ligninas extraídas del chopo, permite el sistema usado extraer también una fracción de bajo peso molecular de maderas de arboles frondosos, siendo evidente también en este caso la influencia del etanol en la solución de
20 disgregación.

Tabla 3

Muestra	M_w	M_n	P_d
80 % de EtOH	1480	1050	1,41
sin EtOH	3800	1230	3,09

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la obtención de resina o plástico usando material lignocelulósico, caracterizado por que
 - 5 a) se trata el material lignocelulósico con una solución acuosa de extracción con un contenido en un alcohol C₁₋₄, en particular etanol o isopropanol, del 70 % v/v al 95 % v/v, en particular del 75 % v/v al 85 % v/v, con un valor de pH de 12 a 14, obteniéndose una solución acuosa de lignina de bajo peso molecular (NML), que presenta un peso molecular promedio Mw de 2000 e inferior a esto, y
 - 10 b) la lignina de bajo peso molecular obtenida de acuerdo con a) se convierte en resina o plástico.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que se obtiene en a) una primera solución acuosa de una lignina de bajo peso molecular, que se usa para tratar material lignocelulósico adicional, en particular lignocelulosa, para enriquecer con lignina de bajo peso molecular adicional la primera solución.
- 15 3. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado por que como material lignocelulósico se usan madera de árboles frondosos, madera de coníferas, paja, bagazo o hierbas anuales y plurianuales.
4. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que la lignina de bajo peso molecular obtenida en a) presenta un Mn de 1100 e inferior a esto.
- 20 5. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que la lignina de bajo peso molecular obtenida en a) presenta una polidispersidad de 2 e inferior a esto.
6. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que la lignina de bajo peso molecular obtenida en a) tiene un contenido en azúcar del 2 % e inferior a esto.
7. Procedimiento para la obtención de lignina de bajo peso molecular, que presenta un peso molecular promedio Mw de 2000 e inferior a esto, a partir de material lignocelulósico, en particular lignocelulosa, en el que se trata el material lignocelulósico con una solución acuosa de extracción con un contenido en un alcohol C₁₋₄, en particular etanol o isopropanol, del 70 % v/v al 95 % v/v, en particular del 75 % v/v al 85 % v/v, con un valor de pH de 12 a 14, en el que se obtiene una primera solución acuosa de lignina de bajo peso molecular, caracterizado por que la primera solución acuosa de lignina de bajo peso molecular se usa para tratar material lignocelulósico adicional, en particular lignocelulosa, para la obtención de una segunda solución acuosa, en la que la lignina de bajo peso molecular está enriquecida en comparación con la primera solución acuosa.
- 30 8. Procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado por que la segunda solución acuosa, en la que está enriquecida la lignina de bajo peso molecular, se usa para tratar material lignocelulósico adicional, en particular lignocelulosa para la obtención de otras soluciones acuosas, en las que la lignina de bajo peso molecular está enriquecida con respecto a la segunda solución acuosa.
- 40 9. Procedimiento para la concentración de lignina de bajo peso molecular con un peso molecular Mw de 2000 e inferior a esto en una primera solución acuosa, que se obtiene mediante el tratamiento de material lignocelulósico con una solución acuosa de extracción con un contenido en un alcohol C₁₋₄, en particular etanol o isopropanol, del 70 % v/v al 95 % v/v, en particular del 75 % v/v al 85 % v/v, con un valor de pH de 12 a 14, caracterizado por que esta primera solución acuosa se usa para el tratamiento de material lignocelulósico adicional para la obtención de otras soluciones acuosas, en las que la lignina de bajo peso molecular está enriquecida en comparación con la primera solución acuosa.
- 45

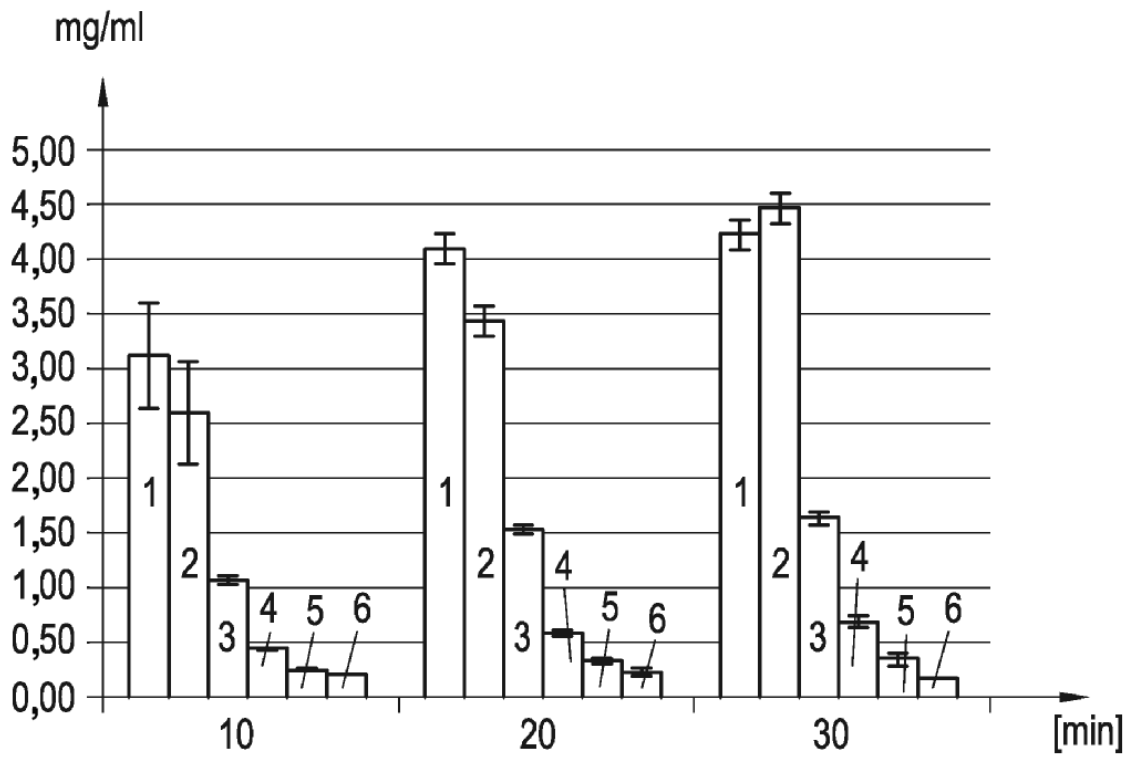


Fig. 1

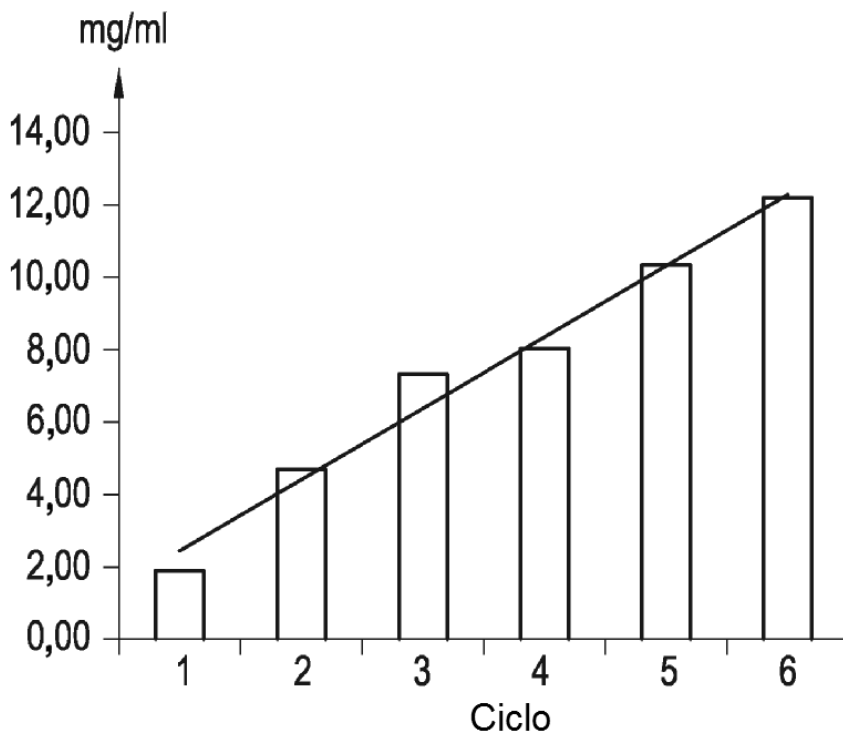


Fig. 2