

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 684 442**

51 Int. Cl.:

C10G 1/00 (2006.01)

C10L 1/02 (2006.01)

C12P 7/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.10.2009 PCT/AU2009/001312**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.04.2010 WO10037178**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.10.2009 E 09817106 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.07.2018 EP 2340293**

54 Título: **Método de producción de bio-aceite**

30 Prioridad:

01.10.2008 US 101805 P

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

02.10.2018

73 Titular/es:

**LICELLA PTY LIMITED (33.3%)
Level 7, 140 Arthur Street
North Sydney, NSW 2060, AU;
IGNITE RESOURCES PTY LTD (33.3%) y
LICELLA FIBRE FUELS PTY LTD (33.3%)**

72 Inventor/es:

HUMPHREYS, LEN

74 Agente/Representante:

CAMPELLO ESTEBARANZ, Reyes

ES 2 684 442 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 de producción de bio-aceite

5 Campo técnico

La invención se refiere a métodos para la conversión de materia lignocelulósica en combustibles. Más específicamente, la invención se refiere a métodos para la generación de un producto de bio-aceite a partir de uno o más componentes específicos de materia lignocelulósica.

10

Antecedentes

Dado el continuo alto precio del petróleo y sus crecientes costes de importación en muchos países, la producción de combustibles alternativos ("biocombustibles") se está volviendo cada vez más importante. Gran parte de la investigación en este campo se ha centrado en la conversión de materia lignocelulósica en combustibles tales como etanol para proporcionar una materia prima alternativa y renovable para las fuentes de materias primas en base a hidrocarburos que se están agotando.

La materia lignocelulósica consiste en polímeros de carbohidratos (celulosas y hemicelulosas) y el polímero fenólico lignina. Las tecnologías existentes para la conversión de la materia lignocelulósica en combustibles generalmente utilizan una serie de etapas que implican el fraccionamiento de la biomasa y la posterior sacarificación y fermentación. Las etapas de sacarificación y fermentación son a menudo complejas y aumentan sustancialmente el coste del proceso. Además, la hidrólisis de celulosa y hemicelulosa en azúcares simples adecuados para la fermentación se ve considerablemente dificultada por la presencia de lignina fuertemente ligada. Las tecnologías existentes gastan una considerable cantidad de energía para reducir el contenido de lignina de las fracciones que contienen azúcar con el objetivo de aumentar la accesibilidad por las enzimas hidrolíticas.

La lignina constituye una proporción importante de la materia lignocelulósica y ofrece otro recurso utilizable, además de los componentes celulósicos y hemicelulósicos. Sin embargo, una gran parte de los métodos para la conversión de biomasa no logra utilizar eficazmente el componente de lignina que, en cambio, termina desechándose. Adicionalmente, muchos de los procesos existentes solamente producen etanol. Si bien el etanol puede utilizarse como combustible, el contenido de energía en base al volumen es aproximadamente un 30 % menor que en los combustibles fósiles actualmente utilizados y no es práctico en los actuales motores diesel. El etanol además atrae el agua, lo que complica su almacenamiento y manipulación. El documento WO2008019228 divulga un proceso continuo para el fraccionamiento de una materia prima de biomasa lignocelulósica que comprende suministrar la materia prima de biomasa en una primera etapa de un recipiente de reacción presurizado, inyectar un primer líquido de lavado en la primera etapa, descargar el primer líquido de lavado de la primera etapa, descargar un producto de biomasa sólido del recipiente de reacción en forma de suspensión, transportar el producto de biomasa a una segunda etapa del recipiente de reacción, inyectar un segundo líquido de lavado en la segunda etapa y descargar el segundo líquido de lavado de la segunda etapa. Existe la necesidad de métodos mejorados para convertir la materia lignocelulósica en productos que contengan energía tales como los biocombustibles. También existe la necesidad de métodos de producción de biocombustibles que aprovechen mejor el potencial de producción de energía de la lignina.

45 Resumen

En el presente documento se describe un método para solvatar biomasa lignocelulósica, comprendiendo el método las etapas de:

- 50
- (a) fraccionar la hemicelulosa de la biomasa con un disolvente,
 - (b) eliminar la hemicelulosa fraccionada de la biomasa restante tras la etapa (a); y
 - (c) solvatar la lignina y la celulosa de la biomasa restante con un disolvente.

También se describe un método para producir un producto de bio-aceite a partir de biomasa lignocelulósica, comprendiendo el método las etapas de:

- 55
- (a) fraccionar la hemicelulosa de la biomasa con un disolvente,
 - (b) eliminar la hemicelulosa fraccionada de la biomasa restante tras la etapa (a); y
 - (c) solvatar la lignina y la celulosa de la biomasa restante tras la etapa (a) con un disolvente,

en el que la solvatación de la etapa (c) produce el producto de bio-aceite.

Se describe un método para producir un producto de bio-aceite a partir de biomasa lignocelulósica, comprendiendo el método las etapas de:

- (a) fraccionar la hemicelulosa de la biomasa con un disolvente,
- (b) eliminar la hemicelulosa fraccionada de la biomasa restante tras la etapa (a);
- (c) fraccionar cualquiera de:

10

- (i) lignina
- (ii) celulosa

de la biomasa restante después de la etapa (a); y

- (d) solvatar cualquiera de o tanto la lignina como la celulosa de la etapa (c),

15

en el que la solvatación de la etapa (d) produce el producto de bio-aceite.

El fraccionamiento de la etapa (c) puede realizarse usando un alcohol, un alcohol acuoso o agua. El alcohol, alcohol acuoso o agua puede usarse para fraccionar la lignina o la celulosa en condiciones supercríticas.

20 El fraccionamiento de la hemicelulosa de la etapa (a) puede realizarse usando agua subcrítica.

El fraccionamiento de la hemicelulosa usando agua subcrítica se puede realizar a una temperatura de entre aproximadamente 100 °C y aproximadamente 300 °C.

25 El fraccionamiento de la hemicelulosa usando agua subcrítica puede realizarse a una presión de entre aproximadamente 2 MPa (20 bar) y aproximadamente 4 MPa (40 bar).

El fraccionamiento de la hemicelulosa usando agua subcrítica puede realizarse a aproximadamente 190 °C y aproximadamente 3 MPa (30 bar).

30

El componente de hemicelulosa fraccionada de la etapa (b) puede someterse a sacarificación para producir un sacárido fermentable. El sacárido puede fermentarse para producir un alcohol seleccionado del grupo que consiste en etanol, butanol, xilitol, manitol y arabinol.

35 También se describe un método para producir un producto de bio-aceite, comprendiendo el método la etapa de solvatar un material de cualquiera o ambos de:

- (i) lignina,
- (ii) celulosa,

40

usando un disolvente, en el que dicha solvatación produce el producto de bio-aceite.

La solvatación puede realizarse usando un disolvente que es un agente alquilante. El agente alquilante puede seleccionarse del grupo que consiste en un haluro de alquilo, un sulfato de alquilo, una olefina y un fosfato de alquilo. El agente alquilante puede ser un alcohol. El alcohol puede ser un alcohol de C1 a C6. El alcohol de C1 a C6 puede ser etanol, metanol o butanol.

El disolvente puede ser acuoso. El disolvente acuoso puede comprender al menos uno por ciento de agua en base al peso total del disolvente. El disolvente acuoso puede comprender al menos uno 80 por ciento de agua en base al peso total del disolvente. El disolvente acuoso puede comprender al menos uno 90 por ciento de agua en base al peso total del disolvente.

La solvatación puede realizarse a una temperatura de entre aproximadamente 230 °C y aproximadamente 360 °C.

55 La solvatación puede realizarse a una presión de entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar).

La solvatación puede realizarse a una temperatura de entre aproximadamente 230 °C y aproximadamente 360 °C, y a una presión de entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar).

La solvatación puede realizarse a una temperatura de aproximadamente 320 °C y a una presión de aproximadamente 18 MPa (180 bar).

5 La etapa de solvatación puede convertir sustancialmente toda la lignina en el producto de bio-aceite.

La etapa de solvatación puede convertir sustancialmente toda la celulosa en el producto de bio-aceite.

10 La etapa de solvatación puede convertir sustancialmente toda la celulosa y sustancialmente toda la lignina en el producto de bio-aceite.

Se describe un producto de bio-aceite obtenido o que puede obtenerse mediante el método de la divulgación.

El producto de bio-aceite puede usarse como un biocombustible o un aditivo para biocombustible.

15

Se describe un método para producir un bio-aceite a partir de materia lignocelulósica, comprendiendo el método las etapas de:

- 20 (a) solvatar hemicelulosa a partir de materia lignocelulósica usando un disolvente,
(b) eliminar la hemicelulosa solvatada de la materia sólida restante después de la etapa (a); y
(c) solvatar la lignina y la celulosa de la materia sólida restante después de la etapa (a) usando un disolvente a una temperatura de entre 250 °C y 400 °C;

en el que la etapa (c) de solvatación de la lignina y la celulosa produce el bio-aceite.

25

La materia lignocelulósica puede comprender hemicelulosa al 10 % - 35 %, celulosa al 15 % - 45 % y lignina al 2 % - 35 %.

30 La materia lignocelulósica puede comprender hemicelulosa al 20 % - 35 %, celulosa al 30 % - 45 % y lignina al 20 % - 35 %.

El disolvente de la etapa (c) puede ser un alcohol acuoso que comprende no más de diez átomos de carbono.

El alcohol acuoso puede ser etanol o metanol.

35

El alcohol acuoso puede comprender el 1 % - 30 % en peso de alcohol.

El alcohol acuoso puede comprender el 5 % - 30 % en peso de alcohol.

40 El alcohol acuoso puede comprender aproximadamente el 25 % en peso de alcohol.

El alcohol acuoso puede comprender aproximadamente el 20 % en peso de alcohol.

La etapa (c) puede realizarse a una temperatura de reacción de entre 250 °C y 400 °C.

45

La etapa (c) puede realizarse a una temperatura de reacción de entre 280 °C y 350 °C.

La etapa (c) puede realizarse a una temperatura de aproximadamente 320 °C.

50 La etapa (c) puede realizarse a una presión de reacción de entre 12 MPa y 24 MPa.

La etapa (c) puede realizarse a una presión de reacción de aproximadamente 20 MPa.

La lignina y la celulosa de la etapa (c) pueden estar en forma de una suspensión.

55

La suspensión puede comprender entre el 2 % y el 45 % en peso de materia sólida.

La suspensión puede comprender entre el 2 % y el 30 % en peso de materia sólida.

La suspensión puede comprender aproximadamente el 5 % en peso de materia sólida.

La etapa (c) puede realizarse durante 2 minutos a 60 minutos.

5 La etapa (c) puede realizarse durante 2 minutos a 40 minutos.

La etapa (c) puede realizarse durante 5 minutos a 30 minutos.

La solvatación de la hemicelulosa de la etapa (a) puede realizarse a una temperatura de reacción de entre 100 °C y
10 250 °C, y una presión de reacción de entre 0,2 MPa y 5 MPa.

El disolvente de la etapa (a) puede ser un ácido acuoso y el tratamiento puede realizarse a un pH inferior a aproximadamente 6,5.

15 El disolvente de la etapa (a) es una base acuosa y el tratamiento puede realizarse a un pH superior a aproximadamente 7,5.

El disolvente de la etapa (a) puede ser agua.

20 El método puede comprender además pretratar la materia lignocelulósica antes de solvatar la hemicelulosa en la etapa (a).

El pretratamiento puede comprender producir una suspensión que comprende una mezcla de un disolvente y partículas derivadas de la materia lignocelulósica.

25

Las partículas pueden tener un tamaño de entre aproximadamente 50 micrómetros y aproximadamente 500 micrómetros.

Las partículas pueden tener un tamaño de entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 400
30 micrómetros.

La suspensión puede comprender entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 20 % de materia lignocelulósica.

35 La lignina puede fraccionarse a partir de la materia sólida restante después de la etapa (a) antes de realizar la etapa (c) de solvatación para producir el bio-aceite.

La celulosa puede fraccionarse a partir de la materia sólida restante después de la etapa (a) antes de realizar la etapa (c) de solvatación para producir el bio-aceite.

40

La hemicelulosa solvatada eliminada en la etapa (b) puede someterse a sacarificación para producir un sacárido fermentable.

El sacárido puede fermentarse para producir un alcohol seleccionado del grupo que consiste en etanol, butanol,
45 xilitol, manitol y arabinol.

También se describe un método para producir un producto de bio-aceite a partir de un material que comprende lignina y celulosa, comprendiendo el método tratar el material con un alcohol acuoso supercrítico a una temperatura de reacción de entre 180 °C y 350 °C y una presión de reacción de entre 8 MPa y 26 MPa, en el que dicho
50 tratamiento solvata la lignina y la celulosa produciendo el producto de bio-aceite.

El material puede tratarse a una temperatura de reacción de entre 280 °C y 350 °C y una presión de reacción de entre 12 MPa y 24 MPa.

55 El alcohol acuoso puede comprender del 1 % al 30 % en peso de alcohol.

El alcohol acuoso puede comprender del 5 % al 30 % en peso de alcohol.

El alcohol acuoso puede ser etanol.

También se describe un bio-aceite obtenido o que puede obtenerse mediante el método de la presente divulgación.

Breve descripción de los dibujos

5

Se describirá ahora una realización preferida, solo a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos en los que:

10 La **Figura 1** es un gráfico que muestra los resultados de un ensayo con ácido dinitrosalicílico (DNS) realizado en muestras de licor de hemicelulosa sometidas a sacarificación usando enzimas hidrolíticas. Las lecturas de la absorbancia (I_{540} , en mOD) de controles solo con sustrato y controles solo con enzima se restaron de las lecturas obtenidas de muestras de enzima-sustrato. Los números de las muestras se muestran en el eje horizontal. El eje vertical muestra cantidades relativas de azúcares reductores presentes en cada muestra.

15 La **Figura 2** es un gráfico que muestra los resultados de un análisis por cromatografía de permeación en gel (GPC) de una fracción de aceite pesado producida de acuerdo con los métodos de la invención. Eje vertical: intensidad normalizada; eje horizontal: peso molecular; trazo claro: tiempo de retención de 15 minutos; trazo oscuro: tiempo de retención de 30 minutos.

20 La **Figura 3** es un gráfico que muestra los resultados del análisis termogravimétrico (TGA) de una fracción de aceite pesado producida de acuerdo con los métodos de la invención. Eje vertical: porcentaje de masa perdida; eje horizontal: temperatura (°C); trazo: representa los resultados de aceite pesado producido usando un tiempo de retención de 30 minutos.

25 La **Figura 4** es un cromatograma que muestra los resultados de un análisis por cromatografía de gases-espectroscopia de masas (GCMS) de aceites extraíbles de éter dietílico derivados de la fase acuosa de una emulsión de aceite producida de acuerdo con los métodos de la invención. Picos: 2.342 (Éter, 1-propenilpropilo), 5.600 (2-Ciclopenten-1-ona, 2-metil-), 6.949 (Fenol), 8.483 (Fenol, 2-metoxi-), 9.690 (2,3-Dimetilhidroquinona), 10.590 (Fenol, 4-etil-2-metoxi-), 10.625 (1,2-Bencenodiol, 4-metil-), 11.433 (Fenol, 2-metoxi-4-propil-), 11.731 (Vainillina), 12.374 (Fenol, 2-metoxi-).

30 La **Figura 5** es un cromatograma que muestra los resultados de un análisis por cromatografía de gases-espectroscopia de masas (GCMS) de una fracción de aceite pesado producida de acuerdo con los métodos de la invención disuelta en tetrahidrofurano. Picos: 10.585 (Fenol, 4-etil-2-metoxi-), 11.433 (Fenol, 2-metoxi-4-propil-), 17.067 (Ácido oleico), 17.742 (2-Isopropil-10-metilfenantreno), 18.343 (3-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-1-alanina), 18.442 ((-)-Nortraquelogenina), 18.686 (Ácido 1-fenantrenocarboxílico, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidro-1,4a-dimetil-7-(1-metiletil)-, éster metílico, [1R-(1.alfa.,4a.beta.,10a.alfa.)]), 18.981 (Ácido 1-fenantrenocarboxílico, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidro-1,4a-dimetil-7-(1-metiletil)-, [1R-(1.alfa.,4a.beta.,10a.alfa.)]), 20.016 (7-(3,4-Metilendioxi)-tetrahidrobenzofuranona), 21.368 (Carinol).

Definiciones

40 Como se usa en esta solicitud, la forma singular "un", "una", y "el/la" incluye referencias plurales a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. Por ejemplo, el término "una partícula" también incluye una pluralidad de partículas.

45 Como se usa en el presente documento, la expresión "que comprende" significa "que incluye". Las variaciones de la expresión "que comprende", tales como "comprenden" y "comprende", tienen significados correspondientemente variados. Por lo tanto, por ejemplo, un material "que comprende" lignina y celulosa puede consistir exclusivamente en lignina y celulosa o puede incluir otras sustancias adicionales.

50 Como se usa en el presente documento, las expresiones "materia lignocelulósica" y "biomasa lignocelulósica" se usan de forma intercambiable y tienen el mismo significado. Los términos incluyen cualquier sustancia que comprende lignina, celulosa, y hemicelulosa.

Como se usa en el presente documento, el término "disolvente acuoso" se refiere a un disolvente que contiene al menos un uno por ciento de agua en base al peso total del disolvente.

55

Como se usa en el presente documento, el término "etanol acuoso" se refiere a un disolvente de etanol que contiene al menos un uno por ciento de agua en base al peso total del disolvente.

Como se usa en el presente documento, el término "sacárido" incluye cualquier molécula que comprenda una o más

unidades de monosacárido. Los ejemplos de sacáridos incluyen, pero sin limitación, celulosa, hemicelulosa, polisacáridos, oligosacáridos, disacáridos y monosacáridos. Los "sacáridos" también incluyen glucoconjugados, tales como glucoproteínas y glucolípidos. Todas las formas estereoisoméricas y enantioméricas de sacáridos se incluyen por el término.

5

Como se usa en el presente documento, una sustancia "supercrítica" (por ejemplo, un disolvente supercrítico) se refiere a una sustancia que se calienta por encima de su temperatura crítica y presurizada por encima de su presión crítica (es decir, una sustancia a una temperatura y presión por encima de su punto crítico). El término "supercrítico" también incluye condiciones de temperatura y/o presión que se encuentran levemente, aunque no sustancialmente (por ejemplo, aproximadamente un 5 %) por debajo del punto crítico de la sustancia en cuestión (es decir, "subcríticas"). Por consiguiente, el término "supercrítico" también incluye un comportamiento oscilatorio alrededor del punto crítico de una sustancia (es decir, movimiento de condiciones supercríticas a condiciones subcríticas, y viceversa). Por ejemplo, un disolvente que tiene un punto crítico de 305 grados Kelvin y 4,87 atmósferas puede, para los fines de la presente invención, considerarse aun "supercrítico" a una temperatura ligeramente inferior (por ejemplo, entre 290 grados y 305 grados Kelvin) y/o a una presión ligeramente inferior (por ejemplo, entre 4,63 y 4,87 atmósferas).

Se entenderá que el uso del término "aproximadamente" en el presente documento con referencia a un valor numérico mencionado (por ejemplo, una temperatura, presión o pH de de reacción) incluye el valor numérico mencionado y valores numéricos dentro de más o menos el diez por ciento del valor mencionado.

Se entenderá que el uso del término "entre" cuando se refiere a un intervalo de valores numéricos incluye los valores numéricos en cada punto final del intervalo. Por ejemplo, un intervalo de temperatura de entre 10 °C y 15 °C es inclusivo de las temperaturas 10 °C y 15 °C.

25

Cualquier descripción de documentos de la técnica anterior en el presente documento, o afirmaciones en el presente documento derivadas o basadas en estos documentos, no implica la aceptación de que los documentos o las afirmaciones derivadas son parte del conocimiento general de la técnica relevante en Australia ni en ningún otro lado.

30

Descripción detallada de la invención

La invención proporciona métodos para generar un producto de bio-aceite a partir de materia lignocelulósica sin la necesidad de hidrólisis ni fermentación enzimática. La materia lignocelulósica tratada de acuerdo con los métodos de la invención generalmente se somete a una etapa de eliminación de hemicelulosa con una posterior conversión directa de la materia restante (que comprende predominantemente lignina y celulosa) en un producto de bio-aceite estable. El producto de bio-aceite puede usarse directamente, procesarse para generar otros productos (por ejemplo, combustibles), o usarse como un aditivo para combustible. La hemicelulosa separada de acuerdo con los métodos de la invención puede convertirse en productos tales como alcoholes.

40

Las tecnologías existentes han demostrado que la materia lignocelulósica puede solubilizarse con disolventes supercríticos. Sin embargo, los productos generados a menudo contienen cantidades importantes de compuestos de tipo alquitrán y son difíciles de procesar. Se cree que los tres principales componentes de la materia lignocelulósica (es decir, lignina, celulosa y hemicelulosa) tienen distintas reactividades. En particular, se cree que la hemicelulosa es propensa a excesivas conversiones que conducen a materiales altamente inestables y/o carbonizados, mientras que se cree que las otras dos fracciones (lignina y celulosa) reaccionan más lentamente. Las altas temperaturas asociadas con el tratamiento supercrítico pueden inducir la disolución de la hemicelulosa mucho antes de que la lignina y la celulosa reaccionen en un grado significativo. Los azúcares derivados de la hemicelulosa, por lo tanto, se deshidratan rápidamente, creando dobles enlaces y moléculas cíclicas altamente reactivas (por ejemplo, furfural) que se polimerizan fácilmente y producen compuestos de tipo alquitrán si no se estabilizan. Eso compromete enormemente la eficiencia de las etapas posteriores (por ejemplo, sacarificación y fermentación) utilizadas en las actuales tecnologías para generar biocombustibles. Los métodos de la invención sortean este problema proporcionando una etapa inicial de separación de hemicelulosa en condiciones moderadas, minimizando de este modo la deshidratación de azúcar y la formación de moléculas de tipo alquitrán durante el procesamiento de los componentes de lignina y celulosa.

55

La solubilización de la materia lignocelulósica usando las actuales tecnologías es generalmente un precursor de etapas adicionales de sacarificación y fermentación necesarias para la producción de biocombustible. Estas etapas de sacarificación y fermentación adicionales son a menudo complejas y aumentan sustancialmente el coste del

proceso. Además, la sacarificación de celulosa y/o hemicelulosa solubilizada en cadenas de azúcares de una longitud adecuada para la fermentación generalmente se ve obstaculizada por la presencia de lignina fuertemente ligada. Los métodos de la invención sortean este problema facilitando la conversión directa de lignina y celulosa en un producto de bio-aceite sin la necesidad de etapas de sacarificación y fermentación.

5

Sin quedar limitado a un mecanismo o modo de acción en particular, se cree que el tratamiento de materia que comprende lignina y celulosa de acuerdo con los métodos de la invención facilita la hinchazón de la lignina y/o la celulosa y la estabilización química del producto de bio-aceite formado, minimizando de este modo la polimerización y formación de compuestos de tipo alquitrán. Se cree que la hinchazón mecánica de la celulosa y/o lignina ayuda a "abrir" el sustrato, haciéndolo más accesible para la hidrólisis y la despolimerización. La estabilización química del producto de bio-aceite puede producirse a través de diversas interacciones, incluyendo la alquilación y la depuración de radicales libres. Por ejemplo, es posible que la alquilación de grupos reactivos en celulosa y/o lignina evite la polimerización de especies altamente reactivas. Además, la depuración de radicales libres por el disolvente (por ejemplo, a través de la formación de radicales hidroxilo y/o radicales etoxi), puede convertir radicales aromáticos en radicales no aromáticos. Esto, a su vez, puede reducir el potencial de reticulación implicado en los productos aromáticos en el producto de bio-aceite.

Por consiguiente, el procesamiento de la materia lignocelulósica de acuerdo con los métodos de la invención sortea varias deficiencias asociadas con los métodos de producción de biocombustibles existentes y también proporciona un medio para explotar el potencial de producción de energía de la lignina.

20

Materia lignocelulósica

Los métodos descritos en el presente documento son adecuados para producir un producto de bio-aceite a partir de un material que comprende lignina y celulosa. Puede utilizarse cualquier material que comprenda lignina y celulosa. El material puede comprender cualquier cantidad de sustancias, además de la lignina y la celulosa. Como alternativa, el material puede consistir predominantemente en lignina y celulosa o consistir en lignina y celulosa solamente. En ciertas realizaciones, el material utilizado en los métodos de la invención adicionalmente contiene proteínas.

30

En ciertas realizaciones, el material utilizado en los métodos de la invención es materia lignocelulósica. En general, materia lignocelulósica se refiere a una sustancia que comprende los componentes de lignina, celulosa y hemicelulosa.

La proporción relativa de lignina, hemicelulosa y celulosa en una muestra dada dependerá de la naturaleza de la materia lignocelulósica.

35

Por ejemplo, en algunas realizaciones, la materia lignocelulósica usada en los métodos de la invención comprende el 2-35 % de lignina, el 15-45 % de celulosa y el 10-35 % de hemicelulosa.

40

En otras realizaciones, la materia lignocelulósica usada en los métodos de la invención comprende el 20-35 % de lignina, el 20-45 % de celulosa y el 20-35 % de hemicelulosa.

En otras realizaciones, el contenido de lignina en la materia lignocelulósica es superior al 35 %, o inferior al 20 %, el contenido de celulosa es superior al 45 % o inferior al 20 %, y el contenido de hemicelulosa es superior al 35 % o inferior al 20 %.

45

En algunas realizaciones, la materia lignocelulósica comprende al menos aproximadamente el 10 % de lignina, al menos aproximadamente el 15 % de celulosa, y al menos aproximadamente el 10 % de hemicelulosa.

50

En otras realizaciones, la materia lignocelulósica comprende al menos aproximadamente el 15 % de lignina, al menos aproximadamente el 20 % de celulosa, y al menos aproximadamente el 15 % de hemicelulosa.

En realizaciones adicionales, la materia lignocelulósica comprende al menos aproximadamente el 20 % de lignina, al menos aproximadamente el 25 % de celulosa, y al menos aproximadamente el 20 % de hemicelulosa.

55

En algunas realizaciones, la materia lignocelulósica comprende al menos aproximadamente el 25 % de lignina, al menos aproximadamente el 30 % de celulosa, y al menos aproximadamente el 25 % de hemicelulosa.

El destinatario experto reconocerá que los métodos descritos en el presente documento están restringidos por las proporciones relativas de lignina, hemicelulosa y celulosa en una fuente dada de materia lignocelulósica.

La materia lignocelulósica para su uso en los métodos de la invención puede derivarse de cualquier fuente.

5

Por ejemplo, puede utilizarse materia vegetal de madera como fuente de materia lignocelulósica. Los ejemplos de plantas leñosas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, pino (por ejemplo, *Pinus radiata*), abedul, eucalipto, bambú, haya, píceas, abeto, cedro, álamo, sauce y álamo. Las plantas leñosas pueden ser plantas leñosas descopadas (por ejemplo, sauce descopado, álamo descopado).

10

A modo de ejemplo únicamente, la proporción de hemicelulosa en materia de plantas leñosas puede ser de entre aproximadamente el 15 % y aproximadamente el 40 %, la proporción de celulosa puede ser de entre aproximadamente el 30 % y aproximadamente el 60 %, y la proporción de lignina puede ser de entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 40 %. Preferiblemente, la proporción de hemicelulosa de la materia de plantas leñosas es de entre aproximadamente el 23 % y aproximadamente el 32 %, la proporción de celulosa entre aproximadamente el 38 % y aproximadamente el 50 % y la proporción de lignina entre aproximadamente el 15 % y aproximadamente el 25 %.

15

Adicionalmente o como alternativa, puede utilizarse materia de plantas fibrosas como fuente de materia lignocelulósica, cuyos ejemplos no limitantes de las cuales incluyen pastos (por ejemplo, mijo), recortes de hierbas, lino, mazorcas de maíz, rastrojo de maíz, caña, bambú, bagazo, cáñamo, sisal, yute, cannabis, paja, paja de trigo, abacá, algodón, kenaf, cáscaras de arroz, y pelo de coco.

20

Las fuentes agrícolas adecuadas de materia lignocelulósica incluyen, pero sin limitación, cultivos agrícolas, residuos de cultivos, y desechos de instalaciones de procesamiento de granos (por ejemplo, cáscaras de trigo/avena, finos de maíz, etc.). En general, los materiales de origen agrícola pueden incluir ramas, arbustos, cañas, maíz y chala, cultivos energéticos, bosques, frutas, flores, granos, hierbas, cultivos herbáceos, hojas, corteza, agujas, troncos, raíces, árboles jóvenes, cultivos leñosos de corta rotación, matas, pastos varilla, árboles, vides, maderas duras y maderas blandas.

30

Adicionalmente o como alternativa, la materia lignocelulósica puede derivarse de bosques comerciales o vírgenes (por ejemplo, árboles, árboles jóvenes, recortes de madera tales como ramas, hojas, corteza, troncos, raíces y productos derivados del procesamiento de dichos materiales).

35

Adicionalmente o como alternativa, pueden utilizarse productos y subproductos que comprenden materia lignocelulósica como fuente de materia lignocelulósica. Los ejemplos no limitantes incluyen materiales relacionados con la madera y desechos de la madera (por ejemplo, residuos agrícolas, residuos de procesamientos forestales o madereros, corrientes de desechos o subproductos de productos de la madera, desechos y recortes de aserraderos y fábricas de papel, aserrín, tablero de partículas y hojas) y productos industriales (por ejemplo, pulpa, papel, residuos de la fabricación de papel, cartón, textiles y telas, dextrano y rayón).

40

La materia lignocelulósica puede pre-tratarse opcionalmente antes de realizar los métodos de la invención. Por ejemplo, pueden utilizarse métodos mecánicos y/o químicos para alterar la estructura de la materia lignocelulósica. Los ejemplos no limitantes de métodos de pretratamiento mecánicos incluyen presión, molienda, agitación, trituración, fresado, compresión/expansión u otros tipos de acción mecánica. El pretratamiento de la materia lignocelulósica puede realizarse usando un aparato mecánico, por ejemplo, una extrusora, un recipiente presurizado o un reactor discontinuo.

45

Los métodos de pretratamiento pueden incluir tratamiento con calor. Por ejemplo, pueden utilizarse métodos de pretratamiento de explosión de vapor para alterar la estructura de la materia lignocelulósica. En general, los métodos de pretratamiento de explosión de vapor implican exponer la materia a vapor de alta presión en un entorno contenido antes de que el producto resultante se descargue explosivamente en una presión atmosférica. El pretratamiento con explosión de vapor puede, además, implicar agitación de la materia lignocelulósica.

50

En realizaciones preferidas, la materia lignocelulósica para su uso en los métodos de la invención se proporciona en forma de una suspensión. La suspensión puede generarse, por ejemplo, convirtiendo la materia lignocelulósica en un polvo de tamaño de partícula adecuado (por ejemplo, usando molienda, agitación, trituración, compresión/expansión u otros tipos de acción mecánica) y mezclando con un líquido apropiado (por ejemplo, agua o alcohol acuoso).

55

El tamaño de partícula de la materia sólida incluida en la suspensión puede ser de entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 10.000 micrómetros. Por ejemplo, el tamaño de partícula de la materia sólida incluida en la suspensión puede ser de al menos aproximadamente 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000 o 9000 micrómetros. Como alternativa, el tamaño de partícula puede ser entre aproximadamente 10 micrómetros y 50 micrómetros, entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 100 micrómetros, entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 400 micrómetros, entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 500 micrómetros, entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 200 micrómetros, entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 300 micrómetros, entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 500 micrómetros, o entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 1000 micrómetros.

En una realización, el tamaño de partícula es de entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 400 micrómetros.

En otra realización, el tamaño de partícula es de entre aproximadamente 50 micrómetros y aproximadamente 500 micrómetros.

En otra realización, la materia sólida es harina de madera y el tamaño de partícula es de entre aproximadamente 150 micrómetros y aproximadamente 300 micrómetros.

La concentración de materia sólida en la suspensión puede ser alta (por ejemplo, superior a aproximadamente el 50 % p/v). Como alternativa, la concentración de materia sólida en la suspensión puede ser de entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 50 %, entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 40 %, entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 30 %, entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 20 %, o entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 10 % p/v.

En ciertas realizaciones, la concentración de materia sólida en la suspensión es de entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 20 % p/v.

En una realización, la materia sólida es harina de madera y la concentración de materia sólida en la suspensión es de aproximadamente el 10 % p/v.

En realizaciones alternativas, los métodos de la invención se realizan usando un material que comprende lignina sin celulosa. Como se usa en el presente documento, se entenderá que un material que comprende lignina "sin" celulosa incluye un material sin celulosa pero también un material que comprende una pequeña cantidad de celulosa (como puede ser el caso después de la purificación o fraccionamiento de lignina a partir de un material más complejo).

En otra realización alternativa, los métodos de la invención se realizan usando un material que comprende celulosa sin lignina. Como se usa en el presente documento, se entenderá que un material que comprende celulosa "sin" lignina incluye un material sin lignina pero también un material que comprende una pequeña cantidad de lignina (como puede ser el caso después de la purificación o el fraccionamiento de celulosa a partir de un material más complejo).

Pueden realizarse una o más etapas de pretratamiento para separar, concentrar y/o purificar lignina y/o celulosa a partir de un material de partida que comprende sustancias adicionales.

Fraccionamiento de hemicelulosa

Los métodos de la invención pueden usarse para generar un producto de bio-aceite a partir de cualquier material que comprende lignina y celulosa.

En ciertas realizaciones, el material es materia lignocelulósica. En realizaciones en las que el material es materia lignocelulósica, la hemicelulosa puede fraccionarse antes de convertir la lignina y la celulosa en un bio-aceite.

El "fraccionamiento" de hemicelulosa a partir de materia lignocelulósica como se contempla en el presente documento se refiere a un proceso por el cual la hemicelulosa se separa parcial o totalmente de otros componentes (por ejemplo, lignina y/o celulosa) de la misma materia.

Después del fraccionamiento de hemicelulosa, la materia sólida restante que comprende predominantemente lignina y celulosa puede tratarse con un disolvente para producir un producto de bio-aceite usando los métodos de la invención.

- 5 En realizaciones alternativas, la materia sólida restante puede separarse o separarse sustancialmente en los componentes lignina y celulosa, uno o ambas de las cuales pueden tratarse para producir un producto de bio-aceite usando los métodos de la invención.

10 La materia lignocelulósica puede pretratarse opcionalmente antes del fraccionamiento de hemicelulosa, por ejemplo, como se describe en la sección anterior titulada "Fraccionamiento de materia lignocelulósica". El fraccionamiento de hemicelulosa a partir de materia lignocelulósica implicará generalmente la escisión de enlaces químicos específicos. Por ejemplo, las uniones cruzadas covalentes entre hemicelulosa y lignina pueden romperse para facilitar el fraccionamiento. Esto puede implicar la escisión de enlaces de éster, por ejemplo, entre el carbono α de la subunidad de fenilpropano en lignina y el grupo carboxilo libre de ácidos urónicos y ácidos aromáticos en hemicelulosa.

Adicionalmente o como alternativa, también puede producirse la escisión de uniones de éster entre el carbono α de la subunidad de fenilpropano en lignina e hidroxilos en hemicelulosa tales como L-arabinosa (O-5), D-glucosa o D-mannosa (O-6), O-2 xilosa, O-3 xilosa o hidroxilo glucosídico (O-1) durante el fraccionamiento de las cadenas de hemicelulosa de la lignina.

El fraccionamiento de hemicelulosa también puede implicar la escisión de enlaces que existen entre la hemicelulosa y la celulosa (por ejemplo, enlaces de hidrógeno) y/o enlaces dentro de la estructura de la hemicelulosa (por ejemplo, uniones $\beta(1\rightarrow4)$ entre unidades de monosacáridos o uniones de la rama lateral $\alpha(1\rightarrow6)$).

25 El fraccionamiento de hemicelulosa de acuerdo con los métodos de la invención generalmente implicará el uso de uno o más disolventes. Cualquier disolvente capaz de solvatar la hemicelulosa puede usarse potencialmente, cuyos ejemplos limitantes incluyen agua, soluciones ácidas acuosas, soluciones alcalinas acuosas y disolventes orgánicos. Las condiciones de reacción adecuadas para la solvatación de la hemicelulosa a partir de materia lignocelulósica dependerán del disolvente o disolventes específicos usados y de la naturaleza del material de partida lignocelulósico.

Preferiblemente, el fraccionamiento de hemicelulosa puede realizarse en condiciones moderadas minimizando de este modo la deshidratación de azúcar y la formación de moléculas de tipo alquitrán a través de la polimerización.

35 En realizaciones preferidas, la hemicelulosa se fracciona mediante solvatación en solución acuosa. En general, la solvatación de hemicelulosa en solución acuosa típicamente también implicará la hidrólisis parcial de la hemicelulosa. Los ejemplos de soluciones acuosas adecuadas para la solvatación e hidrólisis parcial de la hemicelulosa incluyen soluciones ácidas acuosas, soluciones alcalinas acuosas y soluciones acuosas de pH neutro (es decir, pH de aproximadamente 7,0).

45 Una solución acuosa alcalina adecuada puede tener un pH superior a aproximadamente 7,0 o superior a aproximadamente 7,5. Por ejemplo, una solución acuosa alcalina adecuada puede tener un pH de entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 11,0. En ciertas realizaciones, la solución acuosa alcalina tiene un pH de entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 10,5, entre aproximadamente 8,0 y aproximadamente 10,5, entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 10,0, entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 9,5, entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 9,0, entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 8,5, entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 8,0, entre aproximadamente 7,2 y aproximadamente 8,0 o entre aproximadamente 7,0 y 7,5.

50 Una solución acuosa ácida adecuada puede tener un pH inferior a aproximadamente 7,0 o inferior a aproximadamente 6,5. Por ejemplo, una solución acuosa ácida adecuada puede tener un pH de entre aproximadamente 2,0 y aproximadamente 7,0, o entre aproximadamente 3,0 y aproximadamente 7,0. En ciertas realizaciones, la solución acuosa ácida tiene un pH de entre aproximadamente 3,5 y aproximadamente 6,0, entre aproximadamente 3,5 y aproximadamente 7,0, entre aproximadamente 4,0 y aproximadamente 7,0, entre aproximadamente 4,5 y aproximadamente 7,0, entre aproximadamente 5,0 y aproximadamente 7,0, entre aproximadamente 5,5 y aproximadamente 7,0, entre aproximadamente 6,0 y aproximadamente 7,0, entre aproximadamente 6,0 y aproximadamente 6,8 o entre aproximadamente 6,5 y aproximadamente 7,0.

En una realización preferida, la hemicelulosa se fracciona a partir de biomasa lignocelulósica en una solución acuosa a pH neutro (es decir, pH 7,0) o pH sustancialmente neutro.

En otra realización preferida, la hemicelulosa se fracciona a partir de biomasa lignocelulósica en solución acuosa a un pH de entre aproximadamente 6,5 y aproximadamente 7,5.

En otra realización preferida, la hemicelulosa se fracciona a partir de biomasa lignocelulósica en solución acuosa ácida a un pH de aproximadamente 2,0.

10 En la mayoría de los casos, el pH de la mezcla de reacción puede ajustarse añadiendo un ácido o base adecuados.

Los ejemplos no limitantes de ácidos adecuados que pueden usarse para ajustar el pH de una mezcla de reacción incluyen ácido clorhídrico, ácido trifluoroacético, ácido sulfúrico, ácido sulfuroso y ácidos orgánicos tales como ácido propiónico, ácido láctico, ácido cítrico o ácido glicólico. Adicionalmente o como alternativa, puede añadirse dióxido de carbono a la mezcla de reacción para obtener un pH ácido (es decir, un pH inferior a aproximadamente 7,0).

Los ejemplos no limitantes de bases adecuadas que pueden usarse para ajustar el pH de una mezcla de reacción incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de amonio, carbonatos y bicarbonatos.

20 Los métodos mediante los que se puede determinar el pH de una mezcla de reacción se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en Gallagher y Wiley (Eds) Current Protocols Essential Laboratory Techniques John Wiley & Sons, Inc (2008).

La solvatación de hemicelulosa en solución acuosa puede realizarse a cualquier temperatura de reacción (en combinación con cualquiera de los intervalos o valores de pH mencionados anteriormente). Por ejemplo, la solvatación de hemicelulosa en solución acuosa puede realizarse a una temperatura de reacción de entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 250 °C. En ciertas realizaciones de la invención, la temperatura de reacción es de entre aproximadamente 130 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 140 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 150 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 160 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 170 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 180 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 190 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 200 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 210 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 220 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 230 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 240 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 240 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 230 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 220 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 210 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 200 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 190 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 180 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 170 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 160 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 150 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 140 °C o entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 130 °C.

En una realización preferida, la hemicelulosa se fracciona a partir de la materia lignocelulósica a temperaturas de reacción que varían de aproximadamente 120 °C a aproximadamente 190 °C.

45 Las temperaturas de reacción adecuadas pueden obtenerse, por ejemplo, realizando la solvatación de hemicelulosa en un aparato mecánico tal como un reactor discontinuo o un recipiente presurizado. Realizar la solvatación de hemicelulosa en un aparato mecánico también puede permitir la alteración de la presión aplicada a las temperaturas de funcionamiento contempladas.

50 La solvatación de hemicelulosa en solución acuosa puede realizarse a cualquier presión de reacción (en combinación con cualquiera de los intervalos/valores de temperaturas de reacción y/o pH de reacción mencionados anteriormente).

55 Por ejemplo, la solvatación de hemicelulosa en solución acuosa puede realizarse a una presión de reacción de entre aproximadamente 0,1 MPa (1 bar) y aproximadamente 25 MPa (250 bar), entre aproximadamente 0,1 MPa (1 bar) y aproximadamente 10 MPa (100 bar), entre aproximadamente 0,1 MPa (1 bar) y aproximadamente 5 MPa (50 bar), preferiblemente entre aproximadamente 0,2 MPa (2 bar) y aproximadamente 5 MPa (50 bar) y más preferiblemente entre aproximadamente 1 MPa (10 bar) y aproximadamente 4 MPa (40 bar).

En una realización preferida, la hemicelulosa se fracciona a partir de materia lignocelulósica a una presión de reacción de entre aproximadamente 0,2 MPa (2 bar) y aproximadamente 5 MPa (50 bar).

- 5 En otra realización preferida, la hemicelulosa se fracciona a partir de materia lignocelulósica a una presión de reacción de entre aproximadamente 1 MPa (10 bar) y aproximadamente 4 MPa (40 bar).

En general, las reacciones se realizan durante un periodo de tiempo suficiente para solvatar sustancialmente toda la hemicelulosa o la mayoría de la hemicelulosa de la materia lignocelulósica.

10

Por ejemplo, una reacción puede realizarse en condiciones definidas por una combinación de cualquiera de los intervalos/valores de temperatura de reacción, presión de reacción y/o pH de reacción mencionados anteriormente durante menos de 20 minutos. En algunas realizaciones, la reacción puede realizarse durante entre aproximadamente 2 minutos y aproximadamente 20 minutos. En otras realizaciones, la reacción puede realizarse entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 15 minutos. En otras realizaciones, la reacción puede realizarse durante un periodo de más de 20 minutos.

15

Las condiciones de reacción óptimas para la solvatación de hemicelulosa de materia lignocelulósica dependerán en última instancia de factores que incluyen el tipo de materia lignocelulósica en tratamiento y del disolvente específico usado. Por ejemplo, los factores tales como temperatura y pH de la mezcla de reacción, isotonicidad, cantidad de materia lignocelulósica y disolvente, y duración del tiempo de reacción, pueden variarse para optimizar la reacción.

20

Las condiciones de reacción óptimas serán evidentes fácilmente para los destinatarios expertos después del análisis de la hemicelulosa solvatada, que puede realizarse usando métodos estándares generalmente conocidos en la técnica. Por ejemplo, la hemicelulosa solvatada puede analizarse usando técnicas de espectroscopia. Las técnicas de espectroscopia adecuadas incluyen, pero sin limitación, espectroscopia de infrarrojo cercano, espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier, espectroscopia de resonancia magnética nuclear, microscopía raman, microespectrofotometría UV y difracción de rayos X. Adicionalmente o como alternativa, la hemicelulosa solvatada puede cuantificarse mediante cromatografía líquida de alto rendimiento, por ejemplo, usando métodos descritos en Bjerre et al., "Quantification of solubilized hemicellulose from pretreated lignocellulose by acid hydrolysis and high performance liquid chromatography", (1996) en la publicación Riso-R-855 (EN), Rise National Laboratory.

30

En una realización preferida, la hemicelulosa se fracciona a partir de materia lignocelulósica a una temperatura de reacción de entre aproximadamente 100 °C y 250 °C, y una presión de reacción de entre aproximadamente 0,2 MPa (2 bar) y aproximadamente 5 MPa (50 bar). El pH de la mezcla de reacción puede ser de aproximadamente 7,0, superior a aproximadamente 7,0 o inferior a aproximadamente 7,0. El pH de la mezcla de reacción puede ser aproximadamente 2,0.

35

En otra realización preferida, la hemicelulosa se fracciona a partir de materia lignocelulósica a una temperatura de reacción de entre aproximadamente 100 °C y 250 °C, y una presión de reacción de entre aproximadamente 1 MPa (10 bar) y aproximadamente 4 MPa (40 bar). El pH de la mezcla de reacción puede ser de aproximadamente 7,0, superior a aproximadamente 7,0 o inferior a aproximadamente 7,0. El pH de la mezcla de reacción puede ser aproximadamente 2,0.

40

En otra realización preferida, el componente de hemicelulosa se fracciona a partir de la materia lignocelulósica usando agua a un pH de reacción de aproximadamente 7,0 y a una temperatura de reacción de aproximadamente 210 °C.

45

En ciertas realizaciones de la invención, la hemicelulosa se fracciona a partir de materia lignocelulósica mediante solvatación con un disolvente subcrítico. En el contexto de la presente memoria descriptiva, un disolvente subcrítico es un fluido a una temperatura y presión inferiores a su punto crítico termodinámico.

50

En una realización, la hemicelulosa se solvata usando agua subcrítica. Por ejemplo, el agua subcrítica puede usarse a una temperatura inferior a aproximadamente 374 °C y una presión inferior a aproximadamente 22,1 MPa (221 bar).

55

Las temperaturas de reacción adecuadas pueden facilitarse, por ejemplo, realizando la solvatación de hemicelulosa en un reactor discontinuo, un recipiente presurizado o un autoclave.

En ciertas realizaciones, la solvatación de hemicelulosa en agua subcrítica puede realizarse a una temperatura de reacción de entre aproximadamente 100 °C a aproximadamente 270 °C. En otras realizaciones, la temperatura de

reacción está entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 270 °C, entre aproximadamente 140 °C y aproximadamente 270 °C, entre aproximadamente 160 °C y aproximadamente 270 °C, entre aproximadamente 180 °C y aproximadamente 270 °C, entre aproximadamente 200 °C y aproximadamente 270 °C, entre aproximadamente 220 °C y aproximadamente 270 °C, entre aproximadamente 240 °C y aproximadamente 270 °C, entre aproximadamente 260 °C y aproximadamente 270 °C, entre aproximadamente 100 °C y aproximadamente 250 °C, entre aproximadamente 100 °C y aproximadamente 230 °C, entre aproximadamente 100 °C y aproximadamente 210 °C, entre aproximadamente 100 °C y aproximadamente 190 °C, entre aproximadamente 100 °C y aproximadamente 170 °C, entre aproximadamente 100 °C y aproximadamente 150 °C o entre aproximadamente 100 °C y aproximadamente 130 °C.

10

La solvatación de hemicelulosa en agua subcrítica realizada a cualquiera de las temperaturas mencionadas anteriormente puede realizarse, por ejemplo, a una presión inferior a aproximadamente 22 MPa (220 bar), inferior a aproximadamente 20 MPa (200 bar), inferior a aproximadamente 16 MPa (160 bar), inferior a aproximadamente 12 MPa (120 bar), inferior a aproximadamente 8 MPa (80 bar), inferior a aproximadamente 4 MPa (40 bar), inferior a aproximadamente 3 MPa (30 bar), inferior a aproximadamente 2 MPa (20 bar), o aproximadamente 1 MPa (10 bar).

15

En una realización, la hemicelulosa se fracciona a partir de materia lignocelulósica mediante solvatación en agua subcrítica a una temperatura de aproximadamente 190 °C y una presión de aproximadamente 3 MPa (30 bar).

20 El componente de hemicelulosa solvatada puede eliminarse de la materia sólida restante (que sustancialmente comprende lignina y celulosa) usando cualquier medio adecuado. Por ejemplo, la materia sólida restante que comprende lignina y celulosa puede retenerse físicamente pasando la mezcla a través de uno o más filtros ajustados apropiadamente a través de los que puede pasar la fracción de hemicelulosa solvatada. La materia sólida puede retenerse en el filtro o los filtros y lavarse si se desea.

25

Adicionalmente o como alternativa, puede usarse centrifugación para separar la hemicelulosa solvatada de la materia sólida restante. En un sistema continuo, puede usarse flujo a contracorriente de sólidos y líquido para facilitar la separación.

30 En ciertas realizaciones, se usa un aparato de hidrociclón para separar la fracción de hemicelulosa solvatada de la materia restante que comprende lignina y celulosa. Un hidrociclón es un aparato estático que aplica fuerza centrífuga a una mezcla líquida para promover la separación de los componentes pesados, en este caso, la materia sólida restante, de los componentes ligeros, en este caso, la fracción de hemicelulosa solvatada. En general, un hidrociclón puede operarse para separar la hemicelulosa de la materia sólida restante como se indica a continuación. El hidrociclón dirige tangencialmente la afluencia cerca de la parte superior de un cilindro vertical, convirtiendo la velocidad del material entrante en un movimiento rotatorio, y creando de este modo fuerza centrífuga. La materia sólida restante se mueve hacia fuera en dirección a la pared del cilindro donde se aglomera y baja en espiral por la pared hasta una salida. La fracción de hemicelulosa solvatada se mueve hacia el eje del hidrociclón y hacia arriba hasta una salida diferente.

40

Después del fraccionamiento de hemicelulosa, la biomasa restante que comprende predominantemente lignina y celulosa se trata con un disolvente para producir un producto de bio-aceite usando los métodos de la invención.

Como alternativa, la biomasa restante puede fraccionarse en los componentes lignina y celulosa, una o ambas de las cuales pueden tratarse para producir un producto de bio-aceite usando los métodos de la invención.

45

Producción de bio-aceite a partir de celulosa y lignina

Los métodos de la invención proporcionan un medio para generar un producto de bio-aceite a partir de material que comprende lignina y celulosa usando un disolvente en condiciones de reacción definidas. En general, el producto de bio-aceite es estable. El producto de bio-aceite puede estar en forma de una emulsión.

50

Sin quedar limitado a una mecanismo o modo de acción en particular, se cree que un disolvente usado de acuerdo con los métodos de la invención facilita la hinchazón mecánica de la lignina y la celulosa presentes en el material en tratamiento. Esto puede ser la causa de varios efectos incluyendo, por ejemplo, facilitar la "apertura" del sustrato haciéndolo más accesible y propenso a la hidrólisis y a la despolimerización. Adicionalmente, la hinchazón, por sí sola, puede alterar los enlaces de hidrógeno en el sustrato (por ejemplo, los presentes entre la celulosa y la lignina).

55

Por ejemplo, en el caso donde se utiliza un alcohol acuoso (por ejemplo, etanol acuoso o metanol acuoso) para

generar un producto de bio-aceite de acuerdo con los métodos de la invención, se cree que el alcohol puede penetrar el material compuesto de lignina/celulosa, ya que es menos polar que el agua. En ciertas condiciones de reacción, se cree que el agua disuelve sustancias orgánicas tales como hidrocarburos y, por consiguiente, también puede interactuar estrechamente con el sustrato para facilitar la hinchazón. Se cree que la solvatación del sustrato se facilita, al menos en parte, mediante hidrólisis mediada por disolvente (por ejemplo, catálisis básica y ácida). Por ejemplo, la hidrólisis de carbohidratos puede producirse predominantemente a través de la hidrólisis de uniones glucosídicas, mientras que la hidrólisis de lignina (es decir, la despolimerización de lignina) puede facilitarse mediante la hidrólisis de la unión de éter (donde el éter contiene al menos un aromático). Adicionalmente, se cree que la deshidratación de los carbohidratos puede conducir a la eliminación de agua y la formación de enlaces dobles.

En general, se cree que la solvatación de la lignina surge, al menos en parte, de la escisión de enlaces químicos dentro de la estructura ramificada de la lignina, tales como uniones de éter o carbono-carbono. Los ejemplos específicos de uniones que pueden escindirse en la estructura de la lignina incluyen, pero sin limitación, uniones β -O-4 (por ejemplo, fenilpropano β -aril éter), uniones 5-5 (por ejemplo, bifenilo y dibenzodioxocina), uniones β -5 (por ejemplo, fenilcumarano), uniones β -1 (por ejemplo, 1,2-diaril propano), uniones α -O-4 (por ejemplo, fenilpropano α -aril éter), uniones 4-O-5 (por ejemplo, éter diarílico) y uniones β - β (por ejemplo, estructuras de unión β - β). Se cree que la solvatación de celulosa surge, al menos en parte, de enlaces químicos que incluyen, por ejemplo, uniones β -1,4 entre unidades de D-glucosa. Adicionalmente, la solvatación puede implicar la escisión de enlaces que existen entre la lignina y la celulosa (por ejemplo, enlaces de hidrógeno y uniones de éter).

También se postula que un disolvente usado de acuerdo con los métodos de la invención puede actuar como un agente de estabilización química. Nuevamente, sin quedar limitado a un mecanismo o modo de acción en particular, la estabilización puede ocurrir a través de diversas interacciones con intermediarios de reacción y el producto de bio-aceite. La estabilización química puede verse afectada, por ejemplo, por alquilación, arilación, interacción con grupos fenólicos y/o depuración de los radicales libres. En general, la estabilización química sirve para evitar la reticulación y la polimerización, fenómenos que se cree proporcionan compuestos de tipo alquitrán. Además, la depuración de radicales libres por el disolvente (por ejemplo, a través de la formación de radicales hidroxilo y/o radicales etoxi), puede producir el efecto de convertir radicales aromáticos en radicales no aromáticos. Esto, a su vez, puede reducir el potencial de reticulación implicado en los productos aromáticos en el producto de bio-aceite.

De acuerdo con los métodos de la invención, la conversión de material que comprende lignina y celulosa en un producto de bio-aceite puede realizarse usando un disolvente a temperaturas elevadas. Nuevamente, sin quedar ligado a un mecanismo o modo de acción en particular, se cree que las temperaturas elevadas facilitan las reacciones de descarboxilación y eliminación (deshidratación) por las que se elimina gran parte del oxígeno contenido en la biomasa como gas dióxido de carbono y agua, respectivamente.

Cualquier material que comprende lignina y celulosa puede usarse para realizar los métodos de la invención. El material puede comprender cualquier cantidad de sustancias, además de la lignina y la celulosa. Como alternativa, el material puede consistir predominantemente en lignina y celulosa o consistir en lignina y celulosa solamente.

En realizaciones preferidas, el material es materia lignocelulósica o se deriva de materia lignocelulósica.

Como se divulga en el presente documento, los métodos pueden usarse para generar bio-aceite a partir de un material que comprende lignina a partir de la cual la celulosa se ha eliminado completa o sustancialmente (como puede ser el caso después de la purificación o fraccionamiento de lignina a partir de un material más complejo).

Como alternativa, los métodos pueden usarse para generar bio-aceite a partir de un material que comprende celulosa a partir de la cual la lignina se ha eliminado completa o sustancialmente (como puede ser el caso después de la purificación o fraccionamiento de celulosa a partir de un material más complejo).

Los métodos para la producción de bio-aceite descritos en el presente documento, implican el tratamiento de un material que comprende lignina y celulosa con un disolvente. Cuando el material es materia lignocelulósica, se contempla que primero se fraccionará y eliminará la hemicelulosa antes de la generación del bio-aceite a partir de lignina/celulosa. La hemicelulosa puede fraccionarse y eliminarse usando los métodos descritos anteriormente en la sección titulada "Fraccionamiento de hemicelulosa".

En realizaciones preferidas de la invención, el bio-aceite se genera a partir de material que comprende materia de lignina y celulosa proporcionada en forma de una suspensión. La suspensión puede formarse, por ejemplo,

reduciendo la materia en un polvo de tamaño de partícula adecuado (por ejemplo, usando molienda, agitación, trituración, compresión/expansión y/u otros tipos de acción mecánica) y mezclando con un líquido apropiado (por ejemplo, un disolvente acuoso).

- 5 En ciertas realizaciones, la suspensión está formada por materia sólida que comprende lignina y celulosa restantes después del fraccionamiento de hemicelulosa a partir de materia lignocelulósica (por ejemplo, como se describe anteriormente en la sección titulada "Fraccionamiento de materia lignocelulósica").

10 El tamaño de partícula de la materia sólida incluida en la suspensión puede ser de entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 10.000 micrómetros. Por ejemplo, el tamaño de partícula de la materia sólida incluida en la suspensión puede ser de al menos aproximadamente 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000 o 9000 micrómetros. Como alternativa, el tamaño de partícula puede ser entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 50 micrómetros, entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 100 micrómetros, entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 400 micrómetros, entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 500 micrómetros, entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 200 micrómetros, entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 300 micrómetros, entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 500 micrómetros, entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 500 micrómetros, o entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 1000 micrómetros.

20 En una realización, el tamaño de partícula es de entre aproximadamente 100 micrómetros y aproximadamente 400 micrómetros.

25 En otra realización, el tamaño de partícula es de entre aproximadamente 50 micrómetros y aproximadamente 500 micrómetros.

En otra realización, el tamaño de partícula es de entre aproximadamente 150 micrómetros y aproximadamente 300 micrómetros.

30 La concentración de materia sólida en la suspensión puede ser superior a aproximadamente el 50 % p/v. Como alternativa, la concentración de materia sólida en la suspensión puede ser de entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 50 %, entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 40 %, entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 30 %, entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 20 %, o entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 10 % p/v.

35 La concentración de la materia sólida en la suspensión puede ser de aproximadamente el 5 %, aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 15 %, aproximadamente el 20 %, aproximadamente el 25 % o aproximadamente el 30 % p/v.

40 En ciertas realizaciones, la concentración de materia sólida en la suspensión es de entre aproximadamente el 4 % y aproximadamente el 30 % p/v.

En ciertas realizaciones, la suspensión comprende entre aproximadamente el 2 % y aproximadamente el 45 % en peso de materia sólida.

45 En ciertas realizaciones, la suspensión comprende entre aproximadamente el 2 % y aproximadamente el 30 % en peso de materia sólida.

En ciertas realizaciones, la suspensión comprende aproximadamente el 5 % en peso de materia sólida.

50 Puede usarse cualquier disolvente capaz de generar un producto de bio-aceite a partir de material que comprende lignina y/o celulosa en las condiciones de reacción descritas en el presente documento. El disolvente puede utilizarse en condiciones supercríticas, condiciones subcríticas o en condiciones que oscilan por encima y por debajo del punto crítico termodinámico del disolvente.

55 En realizaciones preferidas, el disolvente es un disolvente acuoso (por ejemplo, una solución ácida acuosa, una solución alcalina acuosa o una solución acuosa de pH neutro (es decir, pH de aproximadamente 7,0)). En el contexto de la presente memoria descriptiva, un "disolvente acuoso" es un disolvente que contiene al menos un uno por ciento de agua en base al peso total del disolvente. La relación entre el disolvente con respecto a agua puede

ser superior a aproximadamente 0,01 (es decir, 1 parte de disolvente: 99 partes de agua). Preferiblemente, la relación entre el disolvente con respecto a agua es igual o superior a aproximadamente 0,11 (es decir, 1 parte de disolvente: 9 partes de agua). Mucho más preferiblemente, la relación entre el disolvente con respecto a agua es igual o superior a aproximadamente 0,25 (es decir, 1 parte de disolvente: 4 partes de agua). El disolvente acuoso puede comprender agua y entre aproximadamente el 1 % y el 40 % en peso de disolvente.

En ciertas realizaciones, el disolvente es un agente alquilante. El agente alquilante, en general, comprenderá una cadena de alquilo que tiene un grupo saliente apropiado. La transferencia de una cadena de alquilo desde el agente alquilante al material compuesto de lignina/celulosa puede facilitar la solvatación y/o estabilización química del material compuesto.

Los ejemplos no limitantes de agentes alquilantes adecuados incluyen haluros de alquilo, sulfatos de alquilo, olefinas, fosfatos de alquilo y alcoholes.

Los ejemplos no limitantes de haluros de alquilo incluyen cloruro de metilo, cloruro de isopropilo, bromuro de etilo y yoduro de metilo.

Los ejemplos no limitantes de alquilaromáticos incluyen xilenos y trimetilbencenos.

Los ejemplos no limitantes de olefinas adecuadas incluyen monoolefinas tales como etileno, propileno, n-buteno, isobutileno, 1-penteno, 1-hexeno, ciclohexeno y 1-octeno.

Un ejemplo no limitante de una diolefina adecuada es 1,3-butadieno.

Preferiblemente, se usa alcohol (por ejemplo, un alcohol acuoso) como disolvente para los métodos de producción de bio-aceite descritos en el presente documento. Los alcoholes adecuados pueden tener entre aproximadamente uno y aproximadamente diez átomos de carbono. Los ejemplos no limitantes de alcoholes preferidos incluyen metanol, etanol, alcohol isopropílico, alcohol isobutílico, alcohol pentílico, hexanol e iso-hexanol.

En ciertas realizaciones, el alcohol acuoso comprende entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 30 % en peso de alcohol.

En ciertas realizaciones, el alcohol acuoso comprende entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 30 % en peso de alcohol.

En ciertas realizaciones, el alcohol acuoso comprende aproximadamente el 25 % en peso de alcohol.

En ciertas realizaciones, el alcohol acuoso comprende aproximadamente el 20 % en peso de alcohol.

En ciertas realizaciones, el disolvente comprende una mezcla de alcoholes acuosos (por ejemplo, una mezcla acuosa que comprende metanol y al menos un alcohol distinto, una mezcla acuosa que comprende etanol y al menos un alcohol distinto, una mezcla acuosa que comprende metanol y etanol, o una mezcla acuosa que comprende metanol y etanol y al menos un alcohol distinto).

En ciertas realizaciones, el disolvente comprende una mezcla de alcoholes acuosos que comprende entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 30 % en peso de alcohol, que comprende entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 30 % en peso de alcohol, que comprende aproximadamente el 25 % en peso de alcohol, o que comprende aproximadamente el 20 % en peso de alcohol.

En realizaciones preferidas de la invención, el disolvente usado para producir bio-aceite a partir de material que comprende lignina y/o celulosa es etanol.

En realizaciones particularmente preferidas, el etanol es etanol acuoso. La relación de etanol con respecto a agua puede ser igual o superior a aproximadamente 0,01 (es decir, 1 parte de etanol: 99 partes de agua). Preferiblemente, la relación de etanol con respecto a agua es igual o superior a aproximadamente 0,11 (es decir, 1 parte de etanol: 9 partes de agua). Mucho más preferiblemente, la relación de etanol con respecto a agua es igual o superior a aproximadamente 0,25 (es decir, 1 parte de alcohol: 4 partes de agua).

En ciertas realizaciones, el etanol acuoso comprende entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 30 % en

peso de etanol.

En ciertas realizaciones, el etanol acuoso comprende entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 30 % en peso de etanol.

5

En ciertas realizaciones, el alcohol acuoso comprende aproximadamente el 25 % en peso de etanol.

En ciertas realizaciones, el alcohol acuoso comprende aproximadamente el 20 % en peso de etanol.

- 10 Usando los métodos de la invención, los materiales que comprenden lignina y celulosa pueden convertirse en un producto de bio-aceite usando un disolvente (por ejemplo, uno o más de cualquiera de los alcoholes, alcoholes acuosos o mezclas de alcoholes acuosos específicas mencionados anteriormente) a una temperatura de reacción o un intervalo de temperaturas reacción de entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente 400 °C. En ciertas realizaciones, la temperatura de reacción o el intervalo de temperaturas de reacción es entre aproximadamente 250
- 15 °C y aproximadamente 360 °C, entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente 350 °C, entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente 340 °C, entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente 330 °C, entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente 320 °C, entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente 310 °C, entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente 300 °C, entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente 290 °C, entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente 280 °C, entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente
- 20 270 °C, entre aproximadamente 250 °C y aproximadamente 260 °C, entre aproximadamente 260 °C y aproximadamente 350 °C, entre aproximadamente 270 °C y aproximadamente 350 °C, entre aproximadamente 280 °C y aproximadamente 350 °C, entre aproximadamente 290 °C y aproximadamente 350 °C, entre aproximadamente 300 °C y aproximadamente 350 °C, entre aproximadamente 310 °C y aproximadamente 350 °C, entre aproximadamente 320 °C y aproximadamente 350 °C, entre aproximadamente 330 °C y aproximadamente 350 °C, o
- 25 entre aproximadamente 340 °C y aproximadamente 350 °C. En ciertas realizaciones, la temperatura de reacción es 320 °C.

- Usando los métodos de la invención, cualquiera de las temperaturas de reacción o intervalos de temperaturas de reacción mencionados anteriormente pueden combinarse con una presión de reacción o un intervalo de presiones
- 30 de entre aproximadamente 10 MPa (100 bar) y aproximadamente 30 MPa (300 bar), entre aproximadamente 12 MPa (120 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar), entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar), entre aproximadamente 15 MPa (150 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar), entre aproximadamente 16 MPa (160 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar), entre aproximadamente 17 MPa (170 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar), entre aproximadamente 18 MPa (180 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar)
- 35 (240 bar), entre aproximadamente 19 MPa (190 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar), entre aproximadamente 20 MPa (200 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar), entre aproximadamente 21 MPa (210 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar), entre aproximadamente 22 MPa (220 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar), entre aproximadamente 23 MPa (230 bar) y aproximadamente 24 MPa (240 bar), entre aproximadamente 12 MPa (120 bar) y aproximadamente 22 MPa (220 bar), entre aproximadamente 12 MPa (120 bar) y aproximadamente
- 40 18 MPa (180 bar), entre aproximadamente 12 MPa (120 bar) y aproximadamente 16 MPa (160 bar), entre aproximadamente 12 MPa (120 bar) y aproximadamente 14 MPa (140 bar), entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y aproximadamente 23 MPa (230 bar), entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y aproximadamente 22 MPa (220 bar), entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y aproximadamente 21 MPa (210 bar), entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y aproximadamente 20 MPa (200 bar), entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y
- 45 aproximadamente 19 MPa (190 bar), entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y aproximadamente 18 MPa (180 bar), entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y aproximadamente 17 MPa (170 bar), entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y aproximadamente 16 MPa (160 bar), entre aproximadamente 14 MPa (140 bar) y aproximadamente 15 MPa (150 bar), o aproximadamente 20 MPa (200 bar).

- 50 Usando los métodos de la invención, la conversión de materia que comprende lignina y celulosa en un bio-aceite puede realizarse usando una combinación de cualquiera de las temperaturas de reacción/intervalos de temperaturas de reacción y presiones de reacción/intervalos de presiones de reacción mencionados anteriormente a un pH de reacción adecuado. Por ejemplo, el pH puede ser neutro, ácido (es decir, inferior a 7,0) o básico (es decir, superior a 7,0). En ciertas realizaciones, el pH está entre aproximadamente 6,5 y 7,5.

55

En general, las reacciones para producir bio-aceite de acuerdo con la invención se llevan a cabo durante un periodo de tiempo suficiente para convertir sustancialmente toda la lignina y la celulosa en el material, o la mayor parte de la lignina y la celulosa en el material en un bio-aceite. Por ejemplo, una reacción definida por cualquier combinación de los valores/intervalos de valores de temperatura, presión y/o pH expuestos anteriormente puede realizarse durante

un periodo de tiempo de entre 2 minutos y 60 minutos. En algunas realizaciones, la reacción puede realizarse durante entre aproximadamente 2 minutos y aproximadamente 40 minutos. En algunas realizaciones, la reacción puede realizarse durante entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 40 minutos. En otras realizaciones, la reacción puede realizarse entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 30 minutos. En otras realizaciones, la reacción se realiza durante un periodo de menos de aproximadamente 20 minutos.

Las condiciones de reacción específicas utilizadas para los métodos de producción de bio-aceite proporcionados en el presente documento dependerán de factores tales como el tipo de disolvente usado, si el disolvente es acuoso y, si es así, el porcentaje de agua en el disolvente, la cantidad de material de partida, el tipo específico de material de partida, etc. Por ejemplo, los factores tales como temperatura y pH de la mezcla de reacción, isotonicidad, cantidad de material de partida, cantidad de disolvente y duración del tiempo de reacción pueden variarse para optimizar la reacción.

La composición del disolvente (por ejemplo, porcentaje de agua si es acuosa) y la temperatura/presión utilizadas durante la reacción pueden optimizarse para maximizar el rendimiento y/o reducir el tiempo de procesamiento. En realizaciones preferidas, la totalidad o sustancialmente la totalidad de la lignina y la celulosa en un material de partida dado se convierte en el producto de bio-aceite.

Las condiciones de reacción deseadas pueden lograrse, por ejemplo, realizando la reacción en un aparato mecánico adecuado, capaz de mantener la temperatura elevada y/o la presión elevada. Un aparato mecánico adecuado incluirá, generalmente, cualquier aparato que se proporciona con un medio de calentamiento adecuado y que está diseñado para generar y resistir presión.

Se entenderá que un disolvente usado para producir un bio-aceite de acuerdo con los métodos de la invención puede hacerlo en condiciones de temperatura y presión que están por encima del punto crítico del disolvente (es decir, supercríticas), por debajo del punto crítico del disolvente (es decir, subcríticas) y/o en el punto crítico del disolvente. El punto crítico de un disolvente usado en los métodos dependerá de factores tales como el porcentaje de agua (si se usa un disolvente acuoso) y el estado químico del material en tratamiento. Por ejemplo, es probable que el punto crítico de un disolvente dado cambie durante el transcurso de una reacción dada a medida que el material de partida se solvata. También se prevé que las condiciones de reacción de acuerdo con los métodos de la invención pueden oscilar en torno al punto crítico de un sustancia (es decir, desplazamiento de condiciones supercríticas a condiciones subcríticas y viceversa).

En ciertas realizaciones, el material que comprende lignina y celulosa (por ejemplo, una suspensión que comprende del 2 % al 45 % en peso de materia sólida), se convierte en un producto de bio-aceite usando alcohol acuoso como disolvente (por ejemplo, cualquiera de los disolventes específicos de etanol acuoso mencionados anteriormente) a una temperatura de reacción o un intervalo de temperaturas reacción de entre aproximadamente 250 °C y 400 °C, y una presión de reacción o un intervalo de presiones de reacción de entre aproximadamente 10 MPa (100 bar) y aproximadamente 25 MPa (250 bar), durante un periodo de entre aproximadamente 2 minutos y aproximadamente 60 minutos. Preferiblemente, el alcohol acuoso es etanol acuoso. Preferiblemente, el etanol acuoso comprende entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 30 % en peso de etanol y más preferiblemente entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 30 % en peso de etanol. Aún más preferiblemente, el etanol acuoso comprende aproximadamente el 20 % o aproximadamente el 25 % en peso de etanol.

En otras realizaciones, el material que comprende lignina y celulosa (por ejemplo, una suspensión que comprende del 2 % al 30 % en peso de materia sólida), se convierte en un producto de bio-aceite usando etanol acuoso que comprende entre aproximadamente el 15 % y aproximadamente el 30 % en peso de etanol, a una temperatura de reacción o un intervalo de temperaturas de entre aproximadamente 280 °C y 350 °C, y una presión de reacción o un intervalo de presiones de reacción de entre aproximadamente 15 MPa (150 bar) y aproximadamente 25 MPa (250 bar), durante un periodo de entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 30 minutos.

En realizaciones adicionales, el material que comprende lignina y celulosa (por ejemplo, una suspensión que comprende del 2 % al 30 % en peso de materia sólida), se convierte en un producto de bio-aceite usando etanol acuoso que comprende entre aproximadamente el 20 % y aproximadamente el 25 % en peso de etanol, a una temperatura de reacción o un intervalo de temperaturas de entre aproximadamente 280 °C y 330 °C, una presión de reacción o un intervalo de presiones de reacción de entre aproximadamente 18 MPa (180 bar) y aproximadamente 22 MPa (220 bar), durante un periodo de entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 20 minutos.

En otras realizaciones, el material que comprende lignina y celulosa (por ejemplo, una suspensión que comprende

del 4 % al 30 % en peso de materia sólida), se convierte en un producto de bio-aceite usando etanol acuoso que comprende entre aproximadamente el 20 % y aproximadamente el 25 % en peso de etanol, a una temperatura de reacción o un intervalo de temperaturas de entre aproximadamente 280 °C y 330 °C, y una presión de reacción o un intervalo de presiones de reacción de entre aproximadamente 18 MPa (180 bar) y aproximadamente 22 MPa (220 bar), durante un periodo de entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 20 minutos.

En una realización, el producto de bio-aceite se forma a partir de un material que comprende lignina y celulosa usando etanol acuoso (1 parte de etanol: 99 partes de agua) a una temperatura de reacción de aproximadamente 320 °C y una presión de reacción de aproximadamente 18 MPa (180 bar).

10 En una realización, el producto de bio-aceite se forma a partir de un material que comprende lignina y celulosa usando etanol acuoso (1 parte de etanol: 9 partes de agua) a una temperatura de reacción de aproximadamente 320 °C y una presión de reacción de aproximadamente 18 MPa (180 bar).

15 En otra realización, el producto de bio-aceite se forma a partir de un material que comprende lignina y celulosa usando etanol acuoso (1 parte de etanol: 4 partes de agua) a una temperatura de reacción de aproximadamente 320 °C y una presión de reacción de aproximadamente 18 MPa (180 bar).

Producción de bio-aceite a partir de celulosa

20 Como se divulga en el presente documento, puede generarse un producto de bio-aceite usando un material que comprende celulosa (es decir, material celulósico) del cual se ha eliminado completa o sustancialmente la lignina (según sea el caso después de la purificación o el fraccionamiento de celulosa a partir de un material más complejo). El bio-aceite puede generarse a partir del material usando cualquiera de los métodos (incluyendo las condiciones de reacción) descritos en la sección anterior titulada "Producción de bio-aceite a partir de celulosa y lignina".

Puede utilizarse materia lignocelulósica para producir material celulósico del cual se ha eliminado completa o sustancialmente la lignina.

30 Por ejemplo, puede obtenerse material celulósico del cual se ha eliminado completa o sustancialmente la lignina mediante el fraccionamiento de la lignina (y opcionalmente de la hemicelulosa) de la materia lignocelulósica como se describe a continuación en la sección titulada "Producción de bio-aceite a partir de lignina".

35 Como alternativa, el material celulósico puede generarse mediante fraccionamiento de la celulosa de materia lignocelulósica. El fraccionamiento puede realizarse después de una etapa inicial de fraccionamiento de hemicelulosa, como se describe en la sección anterior titulada "Fraccionamiento de hemicelulosa".

El fraccionamiento de celulosa a partir de materia lignocelulósica puede conseguirse mediante la utilización de un disolvente.

40 Los ejemplos de disolventes y métodos adecuados por los que puede solvarse la celulosa se describen en la Patente de Estados Unidos N.º 2179181, Patente de Estados Unidos N.º 3447939, Patente de Estados Unidos N.º 4097666, Patente de Estados Unidos N.º 4302252, Patente de Estados Unidos N.º 5410034, y la Patente de Estados Unidos N.º 6824599.

45 Los ejemplos de métodos mediante los cuales puede solvarse la celulosa incluyen desintegración hidrolítica mediante el uso de vapor sobrecalentado a presión elevada. Adicionalmente o como alternativa puede solvarse celulosa usando líquidos iónicos o aminas terciarias.

50 Los disolventes adecuados para el fraccionamiento de celulosa a partir de materia lignocelulósica o formas modificadas de la misma (por ejemplo, materia lignocelulósica habiéndose eliminado o sustancialmente eliminado la hemicelulosa) pueden incluir, pero sin limitación, agua, soluciones ácidas acuosas, soluciones alcalinas acuosas y disolventes orgánicos.

55 Preferiblemente, la celulosa puede fraccionarse a partir de materia lignocelulósica o una forma modificada de la misma usando un disolvente acuoso. En general, el fraccionamiento de celulosa mediante solvatación en solución acuosa también implicará la hidrólisis parcial de la celulosa.

El disolvente acuoso puede ser un disolvente ácido acuoso, un disolvente básico acuoso o un disolvente acuoso de

pH neutro (es decir, un pH de aproximadamente 7,0). Una solución acuosa básica adecuada tendrá un pH mayor de aproximadamente 7,0. Por ejemplo, un disolvente acuoso básico adecuado puede tener un pH de entre aproximadamente 7,0 y aproximadamente 12,0. Una solución acuosa ácida adecuada puede tener un pH de menos de aproximadamente 7,0. Por ejemplo, un disolvente ácido básico adecuado puede tener un pH de entre 5 aproximadamente 7,0 y aproximadamente 2,0.

La solvatación de celulosa en un disolvente acuoso puede realizarse a cualquier temperatura de reacción adecuada (en combinación con cualquiera de los intervalos de valores de pH mencionados anteriormente).

10 Por ejemplo, la temperatura de reacción puede ser de entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 400 °C. La temperatura de reacción puede ser de entre aproximadamente 100 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 120 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 140 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 160 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 180 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 200 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 220 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 240 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 260 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 280 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 300 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 320 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 340 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 360 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 380 °C y aproximadamente 400 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 380 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 360 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 340 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 320 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 300 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 280 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 260 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 240 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 220 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 200 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 180 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 160 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 140 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 120 °C, entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 100 °C, o entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 90 °C.

En una realización, la celulosa puede solvataarse e hidrolizarse parcialmente usando agua a un pH de 30 aproximadamente 7,0 y una temperatura de reacción de aproximadamente 340 °C.

La solvatación de celulosa en solución acuosa puede realizarse a cualquier presión de reacción (en combinación con cualquiera de los intervalos o valores de temperatura de reacción y/o pH de reacción mencionados anteriormente).

35 Por ejemplo, la solvatación de celulosa en solución acuosa puede realizarse a una presión de reacción de entre aproximadamente 0,01 MPa (0,1 bar) y aproximadamente 25 MPa (250 bar), entre aproximadamente 0,01 MPa (0,1 bar) y aproximadamente 10 MPa (100 bar), entre aproximadamente 0,01 MPa (0,1 bar) y aproximadamente 5 MPa (50 bar), preferiblemente entre aproximadamente 0,02 MPa (0,2 bar) y aproximadamente 5 MPa (50 bar) y más preferiblemente entre aproximadamente 1 MPa (10 bar) y aproximadamente 4 MPa (40 bar).

40 En general, las reacciones pueden realizarse durante un periodo de tiempo suficiente como para solvatar (es decir, fraccionar) sustancialmente toda la celulosa, o la mayor parte de la celulosa.

45 Por ejemplo, una reacción en condiciones definidas por una combinación de cualquiera de los valores o intervalos de pH de reacción y/o temperatura de reacción y/o presión de reacción mencionados anteriormente puede realizarse en menos de 20 minutos. La reacción puede realizarse durante un periodo de entre aproximadamente 2 minutos y aproximadamente 20 minutos. La reacción puede realizarse entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 15 minutos. La reacción puede realizarse durante un periodo de más de 20 minutos.

50 Las condiciones de reacción óptimas para la solvatación de celulosa dependerán, por último, de factores tales como la pureza del tipo de celulosa en tratamiento y el disolvente específico utilizado. Por ejemplo, los factores tales como temperatura y pH de la mezcla de reacción, isotonicidad, cantidad de materia celulósica y disolvente, y duración del tiempo de reacción, pueden variarse para optimizar la reacción.

55 Las condiciones de reacción óptimas serán evidentes fácilmente para los destinatarios expertos después del análisis de la celulosa solvatada, que puede realizarse usando métodos estándares generalmente conocidos en la técnica. Por ejemplo, la celulosa solvatada puede analizarse usando técnicas de espectroscopia. Las técnicas de espectroscopia adecuadas incluyen, pero sin limitación, espectroscopia de infrarrojo cercano, espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier, espectroscopia de resonancia magnética nuclear, microscopía raman,

microespectrofotometría UV y difracción de rayos X. Adicionalmente o como alternativa, la celulosa solubilizada puede cuantificarse mediante cromatografía líquida de alto rendimiento.

En ciertas realizaciones, el fraccionamiento de celulosa de la materia lignocelulósica puede lograrse mediante tratamiento con agua supercrítica. En general, el agua puede llevarse a un estado supercrítico calentándola a una temperatura por encima de aproximadamente 370 °C a una presión de aproximadamente 22,0 MPa (220 bar).

Las condiciones supercríticas pueden lograrse, por ejemplo, realizando la reacción en un aparato mecánico adecuado, capaz de mantener la temperatura elevada y/o la presión elevada. Los ejemplos de un aparato mecánico adecuado incluyen un autoclave, un reactor supercrítico o cualquier aparato proporcionado con un medio de calentamiento adecuado y diseñado para soportar las presiones utilizadas. En general, el aparato proporcionará preferiblemente un medio para mezclar un disolvente con el material que comprende celulosa y llevar/mantener el disolvente en la mezcla en estado supercrítico.

El material celulósico del cual se ha eliminado completa o sustancialmente la lignina puede tratarse o modificarse adicionalmente antes de la conversión en bio-aceite. Esto puede hacerse para facilitar o mejorar las características químicas o físicas del material que contiene celulosa de forma tal que sea más adecuado para la conversión en aceite usando los métodos descritos en el presente documento.

20 **Producción de bio-aceite a partir de lignina**

Un producto de bio-aceite puede generarse usando un material que comprende lignina del cual se ha eliminado completa o sustancialmente la celulosa (según sea el caso después de la purificación o el fraccionamiento de lignina a partir de un material más complejo). El bio-aceite puede generarse a partir del material usando cualquiera de los métodos (incluyendo las condiciones de reacción) descritos en la sección anterior titulada "Producción de bio-aceite a partir de celulosa y lignina".

Puede obtenerse material que comprende lignina del cual se ha eliminado completa o sustancialmente la celulosa mediante el fraccionamiento de la celulosa (y opcionalmente de la hemicelulosa) de la materia lignocelulósica como se describe más adelante en la sección titulada "Producción de bio-aceite a partir de celulosa".

Como alternativa, el material puede generarse mediante fraccionamiento de la lignina de materia lignocelulósica. El fraccionamiento puede realizarse después de una etapa inicial de fraccionamiento de hemicelulosa, como se describe en la sección anterior titulada "Fraccionamiento de hemicelulosa".

El fraccionamiento de lignina a partir de un material lignocelulósico puede conseguirse, por ejemplo, por tratamiento con un disolvente supercrítico. El fraccionamiento puede realizarse después de una etapa inicial de fraccionamiento de hemicelulosa, como se describe en la sección anterior titulada "Fraccionamiento de hemicelulosa".

En general, un disolvente supercrítico es un disolvente calentado por encima de su temperatura crítica y presurizado por encima de su presión crítica de modo que presenta propiedades tanto de un gas como de un líquido. Sin embargo, se entenderá que el término "supercrítico" como se usa en el presente documento, también incluye condiciones de temperatura y/o presión que se encuentran levemente, aunque no sustancialmente (por ejemplo, aproximadamente un 5 %) por debajo del punto supercrítico de la sustancia en cuestión (es decir, "subcríticas"). Por consiguiente, el término "supercrítico" también incluye un comportamiento oscilatorio alrededor del punto supercrítico de una sustancia (es decir, movimiento de condiciones supercríticas a condiciones subcríticas, y viceversa).

Se puede usar cualquier disolvente supercrítico que sea capaz de solvatar lignina de la biomasa. Los ejemplos no limitantes de disolventes adecuados incluyen óxido nitroso, dióxido de azufre, disolventes a base de amoníaco, aminas, dióxido de carbono y mezclas de los mismos.

El fraccionamiento de lignina con un disolvente supercrítico puede realizarse a una temperatura que sea al menos la temperatura crítica para el disolvente seleccionado y, preferiblemente, superior a la temperatura crítica. Cuando se contemplan dichas temperaturas operativas, la presión aplicada durante la reacción será al menos equivalente a la necesaria para mantener el disolvente como un fluido supercrítico. La temperatura, la composición del disolvente y el intervalo de presión durante la solvatación de la lignina pueden seleccionarse para maximizar el fraccionamiento de la lignina, así como también para reducir el tiempo de procesamiento. Los ejemplos de temperaturas y presiones supercríticas para diversos disolventes adecuados para la solvatación de lignina se describen en la **Tabla 1** a continuación.

Tabla 1: Ejemplos no limitantes de diversos disolventes supercríticos que pueden utilizarse para solvatar la lignina de materia lignocelulósica (o una forma modificada de la misma sin hemicelulosa eliminada)

Disolvente	Peso molecular	Temperatura crítica	Presión crítica	Densidad crítica
	g/mol	K	MPa (atm)	g/cm ³
Dióxido de carbono (CO ₂)	44,01	304,1	7,38 (72,8)	0,469
Agua (H ₂ O)	18,02	647,3	22,12 (218,3)	0,348
Metano (CH ₄)	16,04	190,4	4,60 (45,4)	0,162
Etano (C ₂ H ₆)	30,07	305,3	4,87 (48,1)	0,203
Propano (C ₃ H ₈)	44,09	369,8	4,25 (41,9)	0,217
Etileno (C ₂ H ₄)	28,05	282,4	5,04 (49,7)	0,215
Propileno (C ₃ H ₆)	42,08	364,9	4,60 (45,4)	0,232
Metanol (CH ₃ OH)	32,04	512,6	8,09 (79,8)	0,272
Etanol	46,07	513,9	6,14 (60,6)	0,276

- 5 Las condiciones supercríticas pueden lograrse, por ejemplo, realizando la reacción en un aparato mecánico adecuado para mantener la temperatura elevada y/o la presión elevada. Los ejemplos de un aparato mecánico adecuado incluyen un autoclave, un reactor supercrítico o cualquier aparato proporcionado con un medio de calentamiento adecuado y que está diseñado para soportar las presiones utilizadas. En general, el aparato proporcionará preferiblemente un medio para mezclar un disolvente con el material que comprende lignina y
- 10 llevar/mantener el disolvente en la mezcla en estado supercrítico.

Puede usarse un alcohol supercrítico para solvatar el componente de lignina. Los ejemplos de alcoholes adecuados incluyen, pero sin limitación, metanol, etanol, alcohol isopropílico, alcohol isobutílico, alcohol pentílico, hexanol e isohexanol.

15

La lignina puede fraccionarse a partir de la biomasa usando etanol supercrítico. En general, el etanol puede llevarse a un estado supercrítico calentando la reacción a una temperatura aproximadamente superior a 245 °C a una presión superior a aproximadamente 6,0 MPa (60 bar).

- 20 La lignina puede separarse de la materia sólida restante después del fraccionamiento de la hemicelulosa de la materia lignocelulósica. La separación de la lignina se realiza usando etanol supercrítico como disolvente a una temperatura de reacción superior a aproximadamente 230 °C y a una presión superior a aproximadamente 5,5 MPa (55 bar). Preferiblemente, la reacción puede realizarse a una temperatura de reacción superior a aproximadamente 250 °C y a una presión superior a aproximadamente 6,5 MPa (65 bar). La reacción puede realizarse durante un
- 25 periodo de entre aproximadamente 2 minutos y aproximadamente 15 minutos. Preferiblemente, la reacción puede realizarse durante un periodo de entre aproximadamente 3 minutos y aproximadamente 10 minutos.

La fracción de lignina solvatada puede eliminarse de la materia sólida restante usando, por ejemplo, un aparato ciclónico. Un aparato ciclónico puede separar la lignina de la materia sólida restante como se indica a continuación.

- 30 Puede establecerse un flujo de aire rotativo de alta velocidad que comprende lignina solvatada dentro de un ciclón cónico o cilíndrico, fluyendo el aire en un patrón en espiral desde un extremo superior (más ancho) a un extremo inferior (más estrecho). El flujo de aire sale del ciclón en una corriente recta a través del centro del ciclón y fuera de la porción superior. Las partículas de la materia sólida restante en la corriente de aire rotatoria tienen demasiada inercia como para permanecer en la corriente de aire y caen al fondo del extremo inferior del ciclón, desde donde se
- 35 eliminan.

El material que comprende lignina del cual se ha eliminado completa o sustancialmente la celulosa puede tratarse o modificarse adicionalmente antes de la conversión en aceite usando los métodos descritos en el presente documento. Esto puede hacerse para facilitar o mejorar las características químicas o físicas del material que

40 contiene lignina de forma tal que sea más adecuado para la conversión en aceite usando los métodos descritos en el presente documento.

Producto de bio-aceite

- 45 La divulgación se refiere a un producto de bio-aceite obtenido o que puede obtenerse por los métodos de la divulgación. En general, el producto de bio-aceite será un producto de bio-aceite estable.

El producto de bio-aceite puede comprender compuestos que incluyen, pero sin limitación, alifáticos y aromáticos lineales y ramificados con y sin grupos funcionales (por ejemplo, hexano, tolueno), metoxifenol, etilmetoxifenol y metoxipropilfenol. Los compuestos dentro del bio-aceite pueden comprender grupos funcionales que incluyen, pero sin limitación, fenoles (por ejemplo, ArOH), aldehídos (por ejemplo, RCHO) grupos aromáticos, grupos alquilantes (por ejemplo, olefina), grupos funcionales que contienen oxígeno (por ejemplo, alcoholes, éteres, aldehídos, cetonas y ácidos carboxílicos), metilo, metileno y metilo aromático.

El producto de bio-aceite puede producirse en forma de una emulsión. Los ejemplos no limitantes de compuestos que pueden estar presentes en la emulsión incluyen fenol, 2-ciclopenteno-1-ona, 2-metilo, metoxifenol, etilmetoxifenol y metoxipropilfenol.

En ciertas realizaciones, la emulsión comprende una fase acuosa más ligera y una fase de aceite negro más pesado.

15 La fase acuosa más ligera puede comprender compuestos que incluyen, pero sin limitación, Éter, 1-propenil propil, 2-Ciclopenteno-1-ona, 2-metil-, Fenol, Fenol, 2-metoxi-, 2,3-Dimetilhidroquinona, Fenol, 4-etil-2-metoxi-, 1,2-Bencenodiol, 4-metil-, Fenol, 2-metoxi-4-propil-, Vainillina, y Fenol, 2-metoxi-.

La fase de aceite negro más pesado puede comprender aproximadamente el 70 %-80 % de carbono, y aproximadamente el 5 %-10 % de hidrógeno. La fase oleosa negra puede comprender compuestos que incluyen, pero sin limitación, Fenol, 4-etil-2-metoxi-, Fenol, 2-metoxi-4-propil-, Ácido oleico, 2-Isopropil-10-metilfenantreno, 3-(3-Hidroxi-4-metoxifenil)-1-alanina, (-)-ortraquelogenina, 7-(3,4-Metilenedioxi)-tetrahidrobenzofuranona, ácido 1-fenantrenocarboxílico, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidro-1,4a-dimetil-7-(1-metiletil)-, éster metílico, [1R-(1.alfa.,4a.beta.,10a.alfa.)], ácido 1-fenantrenocarboxílico, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidro-1,4a-dimetil-7-(1-metiletil)-, [1R-(1.alfa.,4a.beta.,10a.alfa.)], y Carinol.

La fase de bio-aceite puede separarse de la emulsión usando técnicas estándar conocidas en la técnica, cuyos ejemplos incluyen el uso de altas temperaturas, presión, gravedad, microfiltración, productos químicos (por ejemplo, tales como agentes de extracción y desmenuzantes), alto cizallamiento, y energía sónica. Los ejemplos específicos de métodos mediante los cuales puede separarse el aceite de la emulsión incluyen el uso de un alto cizallamiento o turbulencia para activar el aceite de la mezcla (véanse, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N.º 4.481.130), dispositivos tales como los descritos en las Patente de Estados Unidos N.º 5.538.628 y la Patente de Estados Unidos N.º 4.483.695, y procesos tales como los descritos en la Publicación PCT N.º WO 2001/074468.

35 Preferiblemente, el producto de bio-aceite tiene un contenido de energía de entre aproximadamente 10 MJ/kg y aproximadamente 30 MJ/kg. En ciertas realizaciones, el producto de bio-aceite tiene un contenido de energía de entre aproximadamente 10 MJ/kg y aproximadamente 25 MJ/kg, entre aproximadamente 18 MJ/kg y aproximadamente 28 MJ/kg, o entre aproximadamente 10 MJ/kg y aproximadamente 15 MJ/kg. En realizaciones específicas, el producto de bio-aceite tiene un contenido de energía de aproximadamente 30 MJ/kg.

El producto de bio-aceite puede usarse en cualquier número de aplicaciones. En ciertas realizaciones, el bio-aceite se usa como un biocombustible. El producto de bio-aceite puede usarse directamente. Adicionalmente o como alternativa, el bio-aceite puede usarse como un aditivo para combustible. Por ejemplo, el producto de bio-aceite puede mezclarse con otros combustibles, incluidos, por ejemplo, etanol, biodiésel y similares. Adicionalmente o como alternativa, el producto de bio-aceite puede procesarse adicionalmente, por ejemplo, para su conversión en otro combustible.

Sacarificación y fermentación de hemicelulosa

50 La hemicelulosa fraccionada obtenida de acuerdo con los métodos descritos de la invención puede someterse a sacarificación para producir azúcares fermentables. Por ejemplo, la sacarificación de hemicelulosa fraccionada puede producir polisacáridos, oligosacáridos, disacáridos, monosacáridos o mezclas de los mismos. Preferiblemente, la sacarificación del componente de hemicelulosa producirá cadenas de polisacáridos que comprenden entre aproximadamente dos y aproximadamente 50 unidades de monosacáridos. Más preferiblemente, la sacarificación del componente de hemicelulosa producirá cadenas de polisacáridos que comprenden entre aproximadamente dos y aproximadamente 10 unidades de monosacáridos, y/o entre aproximadamente cinco unidades de monosacáridos y aproximadamente dos unidades de monosacáridos. Más preferiblemente, la sacarificación del componente de hemicelulosa producirá monosacáridos.

La producción de cadenas de polisacáridos más cortas, oligosacáridos, disacáridos y/o monosacáridos puede lograrse mediante la escisión de uno o más enlaces químicos presentes en la hemicelulosa fraccionada usando cualquier medio adecuado. Los ejemplos no limitantes de enlaces preferidos dentro de la estructura de la hemicelulosa que pueden escindirse incluyen enlaces S-glucosídicos, enlaces N-glucosídicos, enlaces C-
5 glucosídicos, enlaces O-glucosídicos, enlaces α -glucosídicos, enlaces β -glucosídicos, enlaces 1,2-glucosídicos, enlaces 1,3-glucosídicos, enlaces 1,4-glucosídicos y enlaces 1,6-glucosídicos, enlaces de éter, enlaces de hidrógeno y/o enlaces de éster.

La sacarificación de hemicelulosa fraccionada puede realizarse usando cualquier método adecuado conocido en la
10 técnica.

Por ejemplo, puede utilizarse pirólisis para escindir enlaces químicos en la hemicelulosa fraccionada para producir polisacáridos más cortos, oligosacáridos, disacáridos, monosacáridos o mezclas de los mismos. En general, la pirólisis implica la escisión de enlaces químicos mediante la aplicación de calor. Los ejemplos no limitantes de
15 técnicas de pirólisis que puede utilizarse para la sacarificación incluyen pirólisis anhidra (realizada en ausencia de oxígeno), pirólisis hídrica (realizada en presencia de agua) y pirólisis al vacío (realizada en un vacío). Los métodos mediante los cuales se puede proporcionar calor para la pirólisis se conocen generalmente en la técnica e incluyen, por ejemplo, transferencia de calor directa usando un gas caliente o sólidos circulantes, y transferencia de calor indirecta con superficies de intercambio tales como paredes o tubos. Los reactores adecuados para pirólisis se describen, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N.º 3.853.498, Patente de Estados Unidos N.º 4.510.021, Scott et al., Canadian Journal of Chemical Engineering (1984) 62: 404- 412 y Scott et al., Industrial and Engineering
20 Chemistry Process and Development (1985) 24: 581-588.

Adicionalmente o como alternativa, la sacarificación de hemicelulosa fraccionada puede lograrse mediante hidrólisis.
25 Por ejemplo, la hemicelulosa fraccionada puede hidrolizarse mediante la adición de un ácido diluido (por ejemplo, ácido sulfúrico), una base diluida, o agua a pH neutro con la aplicación de calor.

La hemicelulosa fraccionada a partir de materia lignocelulósica puede hidrolizarse usando una o más enzimas hidrolíticas. Puede usarse cualquier enzima capaz de catalizar la hidrólisis de hemicelulosa para producir
30 polisacáridos más cortos, oligosacáridos, disacáridos, monosacáridos y mezclas de los mismos. En general, las enzimas hidrolíticas adecuadas para la sacarificación de hemicelulosa fraccionada usando los métodos de la invención son aquellas que pertenecen a la clase EC 3 (hidrolasas) de la nomenclatura de enzimas del Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB) (<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/>), nomenclatura vigente a la fecha de presentación de esta solicitud.
35 Preferiblemente, las enzimas hidrolíticas utilizadas son aquellas clasificadas en la clase EC 3.2 (glucosilasas) de la nomenclatura de enzimas del NC-IUBMB.

En ciertas realizaciones, las enzimas hidrolíticas adecuadas para su uso en los métodos descritos en el presente documento son aquellas clasificadas en la subclase 3.2.1 (Glucosidasas, es decir, enzimas que hidrolizan
40 compuestos de O- y S-glucosilo) de la nomenclatura de NC-IUBMB. En otras realizaciones, las enzimas hidrolíticas que pueden utilizarse son aquellas clasificadas en la subclase EC 3.2.2 (Compuestos de N-glucosilo de hidrolización) de la nomenclatura de NC-IUBMB. En otras realizaciones, las enzimas hidrolíticas que pueden utilizarse son aquellas clasificadas en la subclase EC 3.2.3 (Compuestos de S-glucosilo de hidrolización) de la nomenclatura de NC-IUBMB.

Los ejemplos no limitantes de glucósido hidrolasas y carbohidrasas adecuadas para su uso en los métodos descritos en el presente documento y fuentes comerciales de estas enzimas se describen en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20060073193. Los ejemplos preferidos incluyen celulasas, xilanasas, arabinosidasas, β -
50 glucosidasas, β -xilosidasas, mananasas, galactanasas, dextranasas, endoglucanasas y alfa-galactosidasa.

Las enzimas hidrolíticas pueden aplicarse en forma purificada o sustancialmente purificada a la hemicelulosa fraccionada, o en combinación con otras sustancias o compuestos (por ejemplo, como parte de un sobrenadante de cultivo). Adicionalmente o como alternativa, puede cultivarse un microorganismo productor de enzimas hidrolíticas o
55 mezclas de microorganismos capaces de producir enzimas hidrolíticas en presencia de hemicelulosa fraccionada de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento para proporcionar una fuente de enzimas hidrolíticas.

Las enzimas hidrolíticas adecuadas para su uso de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento pueden derivarse de cualquier microorganismo adecuado incluyendo, pero sin limitación, bacterias y hongos/levadura. El microorganismo puede ser un organismo sicrófilo, mesófilo, termófilo o extremadamente

termófilo, de acuerdo con la clasificación descrita en Brock, 1986, "Thermophiles: General Molecular and Applied Microbiology", (T.D Brock, Ed) John Wiley and Sons, Inc. Nueva York, y Bergquist et al., 1987, Biotechnol Genet. Eng. Rev. 5:199-244.

- 5 En una realización, la hidrólisis enzimática de hemicelulosa fraccionada puede realizarse usando enzimas hidrolíticas termófilas. El uso de enzimas hidrolíticas termoestables para la hidrólisis de hemicelulosa fraccionada ofrece diversas ventajas con respecto al uso de enzimas hidrolíticas que funcionan óptimamente a temperaturas bajas, incluso una actividad específica más alta y una estabilidad más alta. Típicamente, las enzimas hidrolíticas termófilas muestran actividad hidrolítica a temperaturas de reacción elevadas. Por ejemplo, una enzima hidrolítica
- 10 termófila típicamente permanecerá activa a una temperatura de reacción superior a 60 °C.

Los ejemplos no limitantes de bacterias de las que pueden derivarse las enzimas hidrolíticas adecuadas incluyen *Acidothermus* sp. (por ejemplo, *A. cellulolyticus*), *Anaerocellum* sp. (por ejemplo, *A. thermophilum*), *Bacillus* sp., *Butyrivibrio* sp. (por ejemplo, *B. fibrisolvens*), *Cellulomonas* sp. (por ejemplo, *C. fimi*), *Clostridium* sp. (por ejemplo, *C. thermocellum*, *C. stercorarium*), *Erwinia* sp. (por ejemplo, *E. chrysanthemi*), *Fibrobacter* sp. (por ejemplo, *F. succinogenes*), *Micromonospora* sp., *Rhodothermus* sp. (por ejemplo, *R. marinus*), *Ruminococcus* sp. (por ejemplo, *R. albus*, *R. flavefaciens*), *Streptomyces* sp., *Thermotoga* sp. (por ejemplo, *T. maritima*, *T. neapolitana*), *Xanthomonas* sp. (por ejemplo, *X. campestris*) y *Zymomonas* sp. (por ejemplo, *Z. mobilis*).

- 20 Los ejemplos no limitantes de hongos/levadura de los que pueden derivarse enzimas hidrolíticas adecuadas incluyen *Aureobasidium* sp., *Aspergillus* sp. (por ejemplo, *A. awamori*, *A. niger* y *A. oryzae*), *Candida* sp., *Chaetomium* sp. (por ejemplo, *C. thermophilum*, *C. thermophila*), *Chrysosporium* sp. (por ejemplo, *C. lucknowense*), *Corynascus* sp. (por ejemplo, *C. thermophilus*), *Dictyoglomus* sp. (por ejemplo, *D. thermophilum*), *Emericella* sp., *Fusarium* sp., *Gliocladium* sp., *Hansenula* sp., *Humicola* sp. (por ejemplo, *H. insolens* y *H. grisea*), *Hypocrea* sp., *Kluyveromyces*
- 25 sp., *Myceliophthera* sp. (por ejemplo, *M. thermophila*), *Neurospora* sp., *Penicillium* sp., *Pichia* sp., *Rhizomucor* sp. (por ejemplo, *R. pusillus*), *Saccharomyces* sp., *Schizosaccharomyces* sp., *Sporotrichum* sp., *Thermoanaerobacterium* sp. (por ejemplo, *T. saccharolyticum*), *Thermoascus* sp. (por ejemplo, *T. aurantiacus*, *T. lanuginosa*), *Thermomyces* sp. (por ejemplo, *T. lanuginosa*), *Thermonospora* sp. (por ejemplo, *T. curvata*, *T. fused*), *Thielavia* sp. (por ejemplo, *T. terrestris*), *Trichoderma* sp. (por ejemplo, *T. reesei*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. harzianum*),
- 30 y *Yarrowia* sp.

Pueden cultivarse microorganismos adecuados que producen enzimas hidrolíticas naturalmente, por ejemplo, cualquiera de las bacterias u hongos/levaduras mencionados anteriormente, en condiciones adecuadas para la propagación y/o expresión de la enzima o enzimas hidrolíticas de interés. Los métodos y condiciones adecuadas

35 para el cultivo de microorganismos se conocen generalmente en la técnica y se describen, por ejemplo, en Current Protocols in Microbiology (Coico et al. (Eds), John Wiley and Sons, Inc, 2007).

Los organismos recombinantes pueden usarse como una fuente de enzimas hidrolíticas para la sacarificación de hemicelulosa fraccionada de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento. Adicionalmente o como

40 alternativa, los organismos recombinantes capaces de producir enzimas hidrolíticas pueden cultivarse con hemicelulosa fraccionada. Pueden generarse microorganismos recombinantes, incluyendo cepas bacterianas o fúngicas/de levadura que expresan una o más enzimas hidrolíticas derivadas de una fuente exógena. Los métodos para la producción de microorganismos recombinantes se conocen generalmente en la técnica y se describen, por ejemplo, en Ausubel et al., (Eds) Current Protocols in Molecular Biology (2007) John Wiley & Sons; Sambrook et al.,

45 Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (2000) 3ª Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press; Molecular Cloning (Maniatis et al., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y., 1982); y Current Protocols in Microbiology (Coico et al. (Eds), John Wiley and Sons, Inc, 2007).

Las condiciones de reacción para la hidrólisis enzimática típicamente se basan en las condiciones adecuadas para

50 la enzima o mezcla de enzimas específica. En general, las condiciones típicas para la hidrólisis enzimática incluyen una temperatura de reacción de entre aproximadamente 30 °C y aproximadamente 90 °C, y un pH de entre aproximadamente 4,0 y aproximadamente 8,0. Las temperaturas y pH de reacción adecuados para la hidrólisis enzimática de polisacáridos se describen, por ejemplo, en Viikari et al., "Thermostable Enzymes in Lignocellulosic Hydrolysis", 2007, 108:121-145.

- 55 Los ejemplos no limitantes de fragmentos de oligosacáridos que pueden producirse mediante sacarificación de hemicelulosa incluyen oligosacáridos tales como manan-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos y galacto-oligosacáridos.

Los ejemplos no limitantes de fragmentos de disacáridos que pueden producirse mediante sacarificación de hemicelulosa incluyen sacarosa, lactosa, maltosa, trehalosa, celobiosa, laminaribiosa, xilobiosa, gentiobiosa, isomaltosa, manobiosa, kojibiosa, rutinosa, nigerosa y melibiosa.

- 5 Los ejemplos no limitantes de fragmentos de monosacáridos que pueden producirse mediante sacarificación de hemicelulosa incluyen triosas, incluyendo aldotriosas (por ejemplo, gliceraldehído) y cetotriosas (por ejemplo, dihidroxiacetona), tetrasas, incluidas aldotetrasas (por ejemplo, treosa y eritrosa) y cetotetrasas (por ejemplo, eritrolosa), pentosas, incluyendo aldopentosas (por ejemplo, lixosa, ribosa, arabinosa, desoxirribosa) y cetopentosas (por ejemplo, xilulosa y ribulosa), hexosas, incluyendo aldohexosas (por ejemplo, glucosa, mañosa, altrosa, idosa, galactosa, alosa, talosa y gulosa) y cetohexosas (por ejemplo, fructosa, psicosa, tagatosa y sorbosa), heptosas, incluyendo cetohexosas (por ejemplo, sedoheptulosa y manoheptulosa), octosas, incluyendo octolosa y 2-ceto-3-desoxi-mano-octonato y nonosas, incluyendo sialosa.

- 15 En una realización preferida, la sacarificación de las fracciones de hemicelulosa produce una solución acuosa que comprende cadenas de polisacáridos de longitud más corta, oligosacáridos, disacáridos, monosacáridos o mezclas de los mismos.

- 20 En una realización alternativa de la invención, la hemicelulosa fraccionada obtenida de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento puede someterse a enriquecimiento hidrotérmico en agua sub-supercrítica para producir azúcares fermentables. Los métodos para enriquecimiento hidrotérmico se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en Srokol et al., "Hydrothermal upgrading of biomass to biofuel; studies on some monosaccharide model compounds" *Carbohydr Res.* 2004 Jul 12;339(10): 1717-26.

- 25 De acuerdo con los métodos descritos en el presente documento, los azúcares derivados de hemicelulosa fraccionada pueden fermentarse para producir uno o más productos de azúcar fermentado. Por ejemplo, el microorganismo puede ser capaz de convertir fragmentos de sacáridos en alcoholes (por ejemplo, etanol), o ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido succínico y ácido glutámico). Los ácidos orgánicos pueden usarse en la producción de otros productos, por ejemplo biopolímeros, aminoácidos y antibióticos. Los microorganismos adecuados para la fermentación incluyen, pero sin limitación, bacterias, hongos/levadura y/o variedades recombinantes de estos organismos.

- 35 La fermentación puede realizarse directamente en la hemicelulosa fraccionada. Adicionalmente o como alternativa, la fermentación puede realizarse en sacáridos fragmentados derivados de la sacarificación de la hemicelulosa fraccionada. Adicionalmente o como alternativa, la fermentación puede realizarse simultáneamente con la sacarificación de la hemicelulosa fraccionada. Por ejemplo, una mezcla de reacción que comprende enzimas hidrolíticas y/o microorganismos capaces de producir enzimas hidrolíticas puede combinarse con microorganismos que fermentan azúcares y aplicarse en condiciones de cultivo adecuadas a la hemicelulosa fraccionada de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento.

- 40 En ciertas realizaciones, la lignina residual puede eliminarse de los componentes de hemicelulosa fraccionada antes de la fermentación. La lignina residual puede eliminarse, por ejemplo, usando métodos descritos en Mosier et al., "Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass", 2005, *Bioresource Technology*, 96:673-86.

- 45 En general, la fermentación puede realizarse usando cualquier microorganismo capaz de convertir sacáridos en uno o más productos deseados de azúcar fermentado. Por ejemplo, el microorganismo puede ser capaz de convertir sacáridos en alcoholes (incluso etanol), o ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido succínico y ácido glutámico). Los ácidos orgánicos pueden utilizarse en la producción de otros productos de azúcar fermentado, por ejemplo biopolímeros, aminoácidos y antibióticos.

- 50 En ciertas realizaciones, el microorganismo es capaz de fermentar sacáridos derivados de hemicelulosa fraccionada en uno o más alcoholes. Los ejemplos no limitantes de alcoholes que pueden producirse de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento incluyen xilitol, manitol, arabinol, butanol y etanol.

- 55 En una realización preferida, los sacáridos de 5 carbonos (pentosas) derivados de la sacarificación de la fracción de hemicelulosa se fermentan para producir alcoholes, cuyos ejemplos no limitantes incluyen xilitol, manitol, arbinol y etanol.

Los ejemplos no limitantes de microorganismos capaces de producir etanol a partir de sacáridos incluyen

Zymomonas sp. (por ejemplo, *Z. mobilis*), *Saccharomyces* sp. (por ejemplo, *S. cerevisiae*), *Candida* sp. (por ejemplo, *C. shehatae*), *Schizosaccharomyces* sp. (por ejemplo, *S. pombe*), *Pachysolen* sp. (por ejemplo, *P. tannophilus*), y *Pichia* sp. (por ejemplo, *P. stipitis*).

- 5 Los microorganismos adecuados para la fermentación de sacáridos para producir manitol incluyen, por ejemplo, hongos/levadura y bacterias ácido lácticas. Los microorganismos adecuados expresarán en general enzimas necesarias para la producción de manitol, por ejemplo, manitol deshidrogenasa.

Ejemplos de especies bacterianas que pueden utilizarse para la fermentación de sacáridos en manitol incluyen
10 *Leuconostoc* sp. (por ejemplo, *Leuconostoc mesenteroides*), *Lactobacillus* sp. (por ejemplo, *L. bevis*, *L. buchnei*, *L. fermeyitum*, *L. sanfranciscensis*), *Oenococcus* sp. (por ejemplo, *O. oeni*), *Leuconostoc* sp. (por ejemplo, *L. mesenteriode*) y *Mycobacterium* sp. (por ejemplo, *M. smegmatis*).

Los ejemplos de hongos/levadura adecuados para la fermentación de sacáridos para producir manitol incluyen, pero
15 sin limitación, *Basidiomycetes* sp., *Trichocladium* sp., *Geotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp. (por ejemplo, *M. rouxii*), *Aspergillus* sp. (por ejemplo, *A. nidulans*), *Penicillium* sp. (por ejemplo, *P. scabrosum*), *Candida* sp. (por ejemplo, *C. zeylanoides*, *C. lipolitica*), *Cryptococcus* sp. (por ejemplo, *C. neoformans*) y *Torulopsis* sp. (por ejemplo, *T. mannitofaciens*).

- 20 Los métodos para la fermentación de sacáridos para producir manitol se describen, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N.º 6528290 y la Publicación PCT N.º WO/2006/044608.

Los microorganismos adecuados para la fermentación de sacáridos para producir xilitol incluyen levaduras tales como *Saccharomyces* sp., *Candida* sp. (por ejemplo, *C. magnoliae*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*), *Pichia* sp., y
25 *Debaryomyces* sp. (por ejemplo, *D. hanseni*). Los métodos para la fermentación de xilitol a partir de sacáridos se describen, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N.º 5081026, Patente de Estados Unidos N.º 5686277, Patente de Estados Unidos N.º 5998181, y la Patente de Estados Unidos N.º 6893849.

En realizaciones preferidas de la invención, la fermentación de sacáridos se realiza usando uno o más
30 microorganismos recombinantes. Los métodos para la producción de microorganismos recombinantes se conocen generalmente en la técnica y se describen, por ejemplo, en Ausubel et al., (Eds) Current Protocols in Molecular Biology (2007) John Wiley & Sons y Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (2000) 3ª Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. En general, los microorganismos recombinantes adecuados para su uso en los métodos descritos en el presente documento expresarán uno o más genes que
35 codifican las enzimas necesarias para la conversión de sacáridos en el producto diana deseado.

Los ejemplos de microorganismos etanologénicos recombinantes preferidos son aquellos que expresan alcohol deshidrogenasa y piruvato descarboxilasa. Los genes que codifican alcohol deshidrogenasa y piruvato
40 descarboxilasa pueden obtenerse, por ejemplo, a partir de *Zymomonas mobilis*. Los ejemplos de microorganismos recombinantes que expresan una o ambas de estas enzimas y métodos para su generación se describen, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N.º 5000000, Patente de Estados Unidos N.º 5028539, Patente de Estados Unidos N.º 424202, y Patente de Estados Unidos N.º 5482846.

Los microorganismos recombinantes adecuados pueden ser capaces de convertir pentosas y hexosas en etanol.
45 Los microorganismos recombinantes capaces de convertir pentosas y hexosas en etanol se describen, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N.º 5000000, Patente de Estados Unidos N.º 5028539, Patente de Estados Unidos N.º 5424202, Patente de Estados Unidos N.º 5482846, y la Patente de Estados Unidos N.º 5514583.

Las condiciones de cultivo adecuadas para la fermentación de sacáridos en alcoholes, ácidos orgánicos y otros
50 productos de azúcar fermentado se conocen generalmente en la técnica y se describen, por ejemplo, en Bonifacino et al., (Eds) Current Protocols in Cell Biology (2007) John Wiley and Sons, Inc. y Coico et al., (Eds) Current Protocols in Microbiology (2007) John Wiley and Sons, Inc.. Generalmente, los microorganismos pueden cultivarse a una temperatura de entre aproximadamente 30 °C y aproximadamente 40 °C, y un pH de entre aproximadamente 5,0 y aproximadamente 7,0. Puede ser ventajoso añadir cofactores para las enzimas de fermentación y/o nutrientes para
55 los microorganismos para optimizar la fermentación enzimática. Por ejemplo, pueden añadirse cofactores tales como NADPH y/o NAD al cultivo para facilitar la actividad de las enzimas de fermentación (por ejemplo, xilosa reductasa y xilitol deshidrogenasa). También pueden incluirse fuentes de carbono, nitrógeno y azufre en el cultivo.

Los productos de azúcar fermentado derivados de la hemicelulosa fraccionada pueden refinarse o procesarse

adicionalmente.

Por consiguiente, ciertas realizaciones de la invención se refieren a productos de azúcar fermentado obtenidos o que pueden obtenerse a partir de hemicelulosa fraccionada producida de acuerdo con los métodos descritos en el
5 presente documento.

Por lo tanto, las presentes realizaciones deben considerarse en todos los sentidos ilustrativas y no restrictivas.

Ejemplos

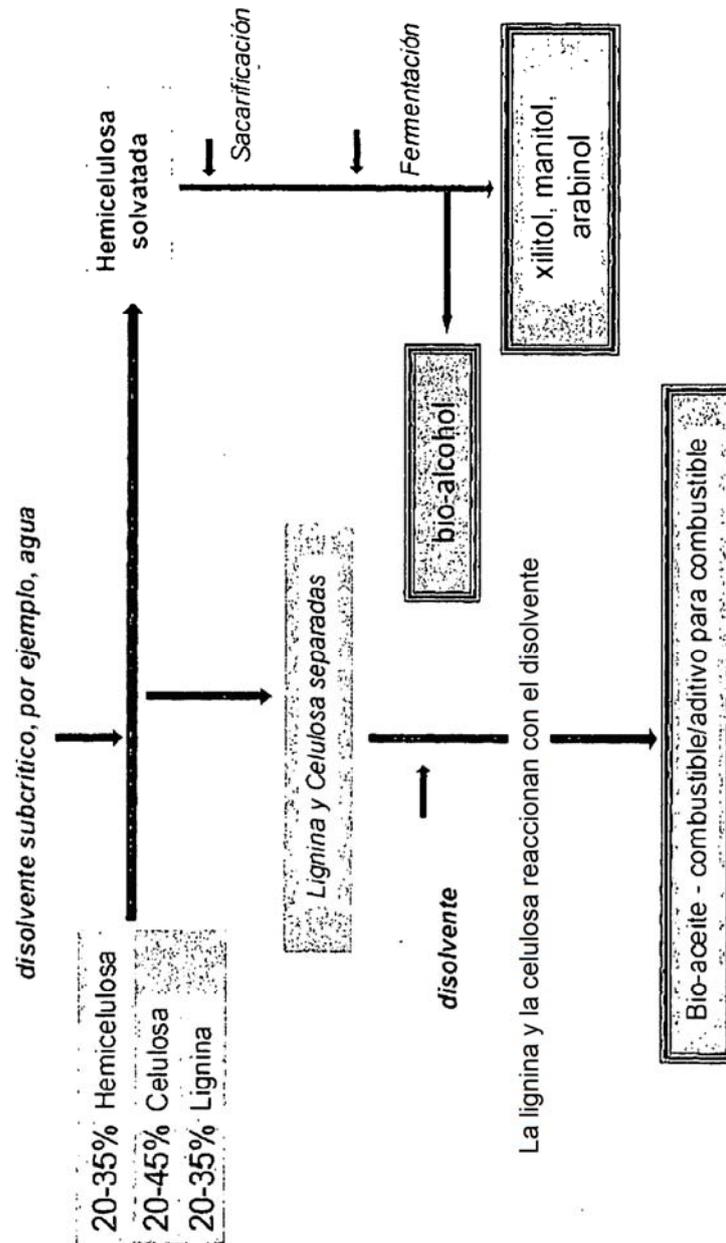
10

A continuación la invención se describirá en referencia a ejemplos específicos, que no deben interpretarse como limitantes en ningún sentido.

Ejemplo 1: Visión general

15

A continuación se proporciona un diagrama de flujo que ilustra ciertas realizaciones de la invención.



Ejemplo 2: Extracción de hemicelulosa de harina de madera

5 *Preparación de suspensión de harina de madera*

Se añadió una cantidad medida de agua a un tanque de alimentación usando un indicador de flujo. Se añadió la harina de madera al tanque y se usó un agitador para suspender la harina de madera y formar una suspensión.

10 Se suministró la suspensión al reactor de planta a través de una bomba de desplazamiento positivo de velocidad variable. La velocidad de la bomba se ajustó para proporcionar la tasa de producción necesaria. La bomba puede

alimentarse con suspensión de harina de madera o agua corriente a efectos del inicio e interrupción a través de la válvula automática de tres vías.

Una válvula de reducción de presión montada en la descarga de la bomba de alimentación de suspensión limitó la presión máxima del sistema a 60 bar. La presión de descarga se controló mediante un transmisor de presión en línea. El tanque de alimentación puede drenarse y enjuagarse desviando la descarga de la bomba de alimentación para drenar a través de una válvula manual de tres vías.

Calentamiento

10

La suspensión se calentó en dos fases, usando en primer lugar bancos de intercambiadores de calor tubulares dobles o concéntricos suministrados con vapor saturado de una caldera y posteriormente con elementos de calentamiento eléctricos.

15 En la primera fase de calentamiento se elevó la suspensión casi a la temperatura del vapor saturado (180 °C) alimentado directamente desde la caldera a presión total. La temperatura que salía de este estado de calentamiento se controló mediante un transmisor de temperatura en línea. El condensado de vapor de la primera fase de calentamiento se devolvió al tanque de alimentación de agua de la caldera a través de trampas de vapor. Esto aumentó la eficiencia térmica del hervidor y permitió una tasa mayor de generación de vapor.

20

Después de salir de la fase de calentamiento por vapor, la suspensión pasó a través de tres elementos de calentamiento eléctricos de 4 kW de 3 m de longitud acoplados en serie a la tubería del proceso. Esta ruta de calentamiento larga (9 m) calentó gradualmente la suspensión hasta la temperatura objetivo final (210 °C). La temperatura final de la suspensión se controló mediante un transmisor de temperatura en línea y se controló variando el suministro de tensión de los tres elementos de calentamiento.

25

Las fases de calentamiento se dispusieron para permitir un calentamiento lento y gradual de la suspensión a la temperatura objetivo de 210 °C para evitar el riesgo de descomponer térmicamente cualquier material y producir bloqueos en el proceso.

30

Reacción

Después del calentamiento hasta la temperatura objetivo, la suspensión se retuvo en una serie de tubos de diámetro mayor (50 mm) durante 5 minutos para proporcionar suficiente tiempo para que se produjera la reacción. El tiempo de residencia en el reactor puede reducirse a 2,5 minutos (si se desea), reconfigurando la tubería del reactor. Estos tubos de reacción se aislaron bien pero no se calentaron, y la temperatura de salida se controló mediante un transmisor de temperatura en línea. La planta se calentó antes de la operación pasándola por agua hasta que se alcanzaron las condiciones objetivo.

Enfriamiento

Después de salir del reactor, la suspensión se enfrió a aproximadamente 80 °C usando un conjunto de intercambiadores de calor tubulares concéntricos y agua corriente. El enfriamiento hasta alcanzar dicha temperatura fue necesario para el funcionamiento del filtro de vacío, ya que la alta presión del vapor del agua caliente impide el funcionamiento al vacío. En general, es deseable filtrar la suspensión tan caliente como sea posible para reducir el riesgo de precipitación y formación de depósitos.

La temperatura de salida del enfriador se controló mediante un transmisor de temperatura en línea, y se controló manipulando el flujo de agua corriente con una válvula de control.

50

Filtrado

Después del enfriamiento, la suspensión se descargó en la cuba de un tambor de filtración pequeño al vacío mediante una válvula de control. Esta válvula de control se usó para ajustar la presión del sistema monitoreada mediante el transmisor de presión. Una válvula automática de tres vías también permitió la descarga alternativa mediante una válvula manual como respaldo.

La suspensión también puede descargarse por drenaje mediante una válvula automática de tres vías. Esto permite que todo el sistema se inicie con agua o se enjuague al finalizar una pasada. Esta válvula también permite que la

planta se mantenga funcionando durante un periodo corto por si surge cualquier problema con el filtro.

El tambor de filtración rotatorio incluía una bomba de vacío y una bomba centrífuga. Éstas recogieron y transfirieron el filtrado desde y hasta un tubo vertical montado con un interruptor de nivel. El filtrado (licor/azúcar de hemicelulosa) se descargó del tubo vertical en un tanque de recogida para su uso posterior. La tela de filtro sintética tenía una permeabilidad de aire de aproximadamente 35 cfm y cubría un área de 1858 cm².

El tambor de filtró usó un agitador oscilante para evitar la sedimentación de la suspensión en la cuba de recogida. Los motores de accionamiento del tambor y el agitador se controlaron mediante controles de velocidad variable operados de forma local para permitir que se optimizara el espesor de la torta y el rendimiento del filtro.

La torta de filtro se retiró del tambor cubierto con tela sintética mediante una rasqueta ajustable, de donde cayó por gravedad en un tanque de recepción lleno de agua agitado constantemente mediante un agitador para desintegrar y suspender la torta de filtro. Antes del funcionamiento, este tanque se llenó con agua a través de un indicador de flujo hasta un nivel por encima del agitador, evitando así posibles daños en el agitador.

Desde el tanque de recepción, la suspensión (que contenía lignina y celulosa) se transfirió hasta un tanque de alimentación en un reactor diferente (para procesamiento adicional) mediante una bomba de diafragma operada con aire, estando dicho aire controlado mediante una válvula de solenoide.

20 *Sistema rociador*

Se usó una barra rociadora instalada encima del tambor para lavar la solución de producto (licor/azúcar de hemicelulosa) de la torta de filtro para maximizar la recuperación. La barra rociadora recibió agua corriente caliente desde el enfriador, reduciendo el consumo de agua y permitiendo un lavado más eficaz con respecto al uso de agua fría.

El flujo de agua de lavado se controló mediante una válvula de control y un medidor de flujo en línea. La válvula de control desvió el exceso de agua caliente no requerida por la barra rociadora al drenaje.

30 El flujo de agua de lavado se controló hasta una relación de tasa de alimentación, de manera que el flujo fuera suficiente para desplazar solo el licor ligado en la torta de filtro. De esta forma, se logró un buen lavado sin dilución excesiva del licor del producto.

35 La hemicelulosa liberada puede someterse entonces a una despolimerización enzimática y posterior fermentación y destilación mediante métodos establecidos para producir etanol. Las fracciones restantes de celulosa/lignina de madera pueden recogerse como un sólido y tratarse adicionalmente.

40 *ESPECIFICACIONES DEL EQUIPO*

Especificaciones del reactor de planta

Las especificaciones operativas fundamentales del reactor de planta fueron como se indica a continuación:

Velocidad de alimentación:	120 kg/h de suspensión por hora
Consistencia de alimentación:	Máximo del 10 % de sólidos secos
Tamaño de alimentación:	Tamaño de partícula máximo de 300 micrómetros
Presión operativa del proceso:	40 bar (calibrador)
Presión de diseño del proceso:	60 bar (calibrador)
Temperatura de diseño del proceso:	250 °C
Presión operativa del proceso:	210 °C
Presión de diseño de camisa de intercambiador de calor:	20 bar
Temperatura de diseño de camisa de intercambiador de calor:	325 °C
Presión/temperatura de suministro de vapor saturado:	10 bar (calibrador); 180 °C

45 **Ejemplo 3: Fraccionamiento de licor de hemicelulosa de pino radiata (*Pinus radiata*)**

Se realizó una serie de realizaciones diferentes en las que se extrajo licor de hemicelulosa de pino radiata (*Pinus radiata*). Las diferentes condiciones de reacción usadas para cada unas de las trece realizaciones representativas se describen en la **Tabla 2** a continuación.

Se preparó harina de madera (150-300 micrómetros) y se combinó con agua en un tanque discontinuo para producir una suspensión (5 %-10 % v/v de concentración de sólidos) que después se bombeó a un reactor. La suspensión se calentó con vapor hasta alcanzar una temperatura de 120 °C-210 °C y se extrajo hemicelulosa con un pH neutro, o en condiciones ácidas proporcionadas mediante la adición de ácido sulfúrico (0,1 % - 0,4 % en peso) o dióxido de carbono. Las reacciones de extracción de hemicelulosa se realizar durante un periodo de hasta 10 minutos.

Después de finalizada la reacción, la mezcla se pasó a través de un filtro para proporcionar las fracciones separadas sólida (lignina y celulosa) y líquida (hemicelulosa y agua). En algunos casos, la fracción sólida (torta de filtro) se lavó para obtener el licor de hemicelulosa residual. Después, la fracción de hemicelulosa separada se analizó para determinar el contenido de azúcar como se describe en los Ejemplos 4 y 5 a continuación.

Tabla 2: Condiciones de reacción para extracción de hemicelulosa de *P. radiata*

Variable	Intervalo disponible	Condiciones de realización					
		1	2	3	4	5	6
Presión (bar)	22 - 60	40	40	40	30	30	30
Temperatura (°C)	120 - 210	120 - 210	120 - 210	120 - 210	120 - 190	120 - 190	120 - 190
Concentración de sólidos (%)	5 - 15 %	10	10	10	10	20	10
Tiempo de retención (min)	0-10	10	5	0	10	20	10
pH	2 - 7	7	7	7	~2	7	~2
Aditivos	Etanol, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, dióxido de carbono	Ninguno	Ninguno	Ninguno	ácido sulfúrico al 0,4 %	Ninguno	Dióxido de carbono
Grado de harina de madera	180 y 300 micrómetros	300	300	300	300	300	300
Especie de madera	Pino radiata, Roble	Pino radiata	Pino radiata	Pino radiata	Pino radiata	Pino radiata	Pino radiata

15

Tabla 2 (cont): Condiciones de reacción para extracción de hemicelulosa de *P. radiata*

Variable	Intervalo disponible	Condiciones de realización					
		7	8	9	10	11	12
Presión (bar)	22 - 60	30	30	30	30	30	30
Temperatura (°C)	120 - 210	120 - 190	160 - 190	160 - 190	190	140 - 160	190
Concentración de sólidos (%)	5 - 15 %	15 % o más	10	10	10	10	10
Tiempo de retención (min)	0 - 10	20	2,5	5	5	5	5
pH	2 - 7	7	7	7	7	7	7
Aditivos	Etanol, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, dióxido de carbono	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	ácido sulfúrico al 0,1 % en peso	Ninguno
Grado de harina de madera	180 y 300 micrómetros	300	300	300	150	300	150
Especie de madera	Pino radiata, Roble	Pino radiata	Pino radiata	Pino radiata	Pino radiata	Pino radiata	Pino radiata

Ejemplo 4 (no según la invención): producción de azúcares reductores a partir de la fracción de hemicelulosa usando hidrólisis enzimática

20 La hidrólisis enzimática se realizó en fracciones de licor de hemicelulosa obtenidas a partir de muestras de pino radiata mediante el proceso descrito en el Ejemplo 3 anterior.

3.1 Materiales y métodos

Las condiciones para la hidrólisis enzimática fueron las que se muestran en la **Tabla 3** a continuación.

5

Tabla 3: Hidrólisis enzimática de muestras

Muestra número	pH (muestras de licor)	pH (con enzima + tampón)	Temp. durante el muestreo (°C)	Peso de extractos * (mg/ml)	Descripción/Comentarios
1,1	4,90	5,16	TA	5,2	10 % de FS
1,2	3,82	4,8	190	12,0	
1,3	3,84	4,8	190	11,12	
1,4	4,12	4,96	150	11,68	
1,5	4,24	5,02	150	11,08	
1,6	4,37	5,11	130	7,76	
1,7	4,49	5,10	130	7,40	
2,1	4,75	5,15	TA	5,16	10 % de FS
2,2	4,19	5,0	190	13,12	
2,3	4,21	5,0	190	13,08	
2,4	4,40	5,08	163	9,56	
2,5	4,46	5,12	163	8,44	
2,6	4,72	5,17	105	6,28	
2,7	4,62	5,20	105	5,68	

FS: suspensión de materia prima;

TA: temperatura ambiente

*: en base al peso seco de muestras de 25 ml de licor transparente secadas en placas de Petri a 70 °C, 14,5 horas

Tampones y pH

10 Se incluyó tampón universal 120 mM (pH 6,5) en las mezclas de reacción para proporcionar condiciones óptimas para que las enzimas hidrolíticas actuaran sobre la hemicelulosa presente en las diferentes fracciones. El pH objetivo durante estos ensayos fue ~5-6. Como se muestra en la Tabla 3 anterior, el pH de cada muestra se midió antes y después de la adición de tampón y las muestras de enzimas.

15 *Enzimas hidrolíticas*

Se usó una cepa de *Trichoderma reesei* recombinante para producir una mezcla de enzimas hidrolíticas que comprendía tanto enzimas fúngicas hidrolíticas como una xilanasa termófila (XynB).

20 *Mezclas de reacción*

Las mezclas de reacción para la hidrólisis enzimática se prepararon como se indica a continuación:

(i) Muestras de licor de hemicelulosa

Sustrato	500 µl
Enzima	300 µl
Tampón univ. (pH 6,5)	200 µl

25 (ii) Control solo con sustrato

Sustrato	500 µl
Tampón univ. (pH 6,5)	200 µl
H ₂ O	300 µl

(iii) Control solo con enzima:

Enzima	300 µl
Tampón univ. (pH 6,5)	200 µl
H ₂ O	500 µl

Todos los tubos se incubaron a 50 °C (con rotación) durante 1,5 horas y luego se retiraron y se mantuvieron a 4 °C.

Ensayo colorimétrico de azúcar reductor

5 Se usó un ensayo de azúcar reductor de ácido dinitrosalicílico (DNS) colorimétrico como un indicador de la hidrólisis enzimática (véase Bailey y Poutanen (1989), "Production of xylanases by strains of *Aspergillus*", Appl. Microbiol. Biotechnol. 30: 5-10). El método de azúcar reductor de DNS evalúa la presencia de grupos carbonilo libres (C=O) presentes en azúcares reductores (por ejemplo, glucosa, xilosa, manosa, etc.). Como resultado, el ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) se reduce en ácido 3-amino,5-nitrosalicílico en condiciones alcalinas y se forma un color
10 naranja-pardo intenso, indicativo de azúcares reductores, etc.

Se recogieron 50 µl de muestra de cada tubo después de la hidrólisis enzimática, se mezclaron con 75 µl de DNS y se hirieron durante 5 minutos. Se leyó la absorbancia de I_{540} de muestras de 100 µl.

15 3.2 Resultados

Ensayo colorimétrico de azúcar reductor

Las lecturas de absorbancia obtenidas de las muestras de 100 µl etiquetadas 1.1-1.7 y 2.1-2.7 se representaron
20 gráficamente y se muestran en la **Figura 1**. Estos resultados indican la presencia y el posterior aumento de extremos reductores después de la hidrólisis con la mezcla de las enzimas hidrolíticas utilizada.

Ejemplo 5 (no según la invención): Hidrólisis de ácido-azúcar total y análisis mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)

25 La hidrólisis enzimática se realizó en fracciones de licor de hemicelulosa obtenidas a partir de muestras de pino radiata mediante el proceso descrito en el Ejemplo 3 anterior.

4.1 Materiales y métodos

30 El análisis total de azúcar se realizó de acuerdo con el Método de Prueba Estándar para la Distribución de Carbohidratos de Materiales Celulósicos, Estándar TAPPI, Denominación: D 5896 - 96 (2007), con algunas modificaciones menores.

35 Brevemente, las muestras se prepararon de la siguiente forma:

1. Se transfirieron muestras de licor (que contenían 100 mg de extractos totales, véase la **Tabla 3**) a tubos de vidrio de cultivo de 10 x 150 mm y se secaron usando un horno fijado a 75 °C.
- 40 2. Se añadió 1 ml de ácido sulfúrico al 72 % frío a cada tubo que contenía 100 mg de extractos/carbohidrato (en base absolutamente seca), se mezcló cuidadosamente, y luego se incubó en un refrigerador durante una noche (4 °C)
3. Las muestras se calentaron a 30 °C durante 1 hora seguida de la adición de 28 ml de MilliQ-H₂O
4. Las muestras se sometieron a autoclave a 121 °C durante 1 hora (realización húmeda) y luego se enfriaron a temperatura ambiente.
- 45 5. Se retiraron 20 - 25 ml de sobrenadante y se centrifugaron a 13.500 rpm durante 30 - 60 minutos a temperatura ambiente.
6. El sobrenadante limpio se retiró para su análisis o se almacenó a -20 °C.

A continuación se realizó la cromatografía líquida de alto rendimiento en las instalaciones de la Australian Proteome
50 Analysis Facility (APF, www.proteome.org.au)

4.2 Resultados

Hidrólisis de azúcar-ácido total y análisis por HPLC

55 Las **Tablas 4-9** resumen los cálculos de concentración total de azúcar y las relaciones moleculares de los diferentes tipos de mono azúcares en las muestras de licor de hemicelulosa sometidas a hidrólisis ácida. Los resultados se resumen en la **Tabla 10**.

Tabla 4. Cantidad detectada mediante HPAEC-PAD (pmol)

	Muestra (i)	Muestra (i) (control)	Muestra (ii)	Muestra (ii) (control)
Ara	192	220	112	223
Gal	329	35	332	52
Glc	319	91	298	36
Xly	132	49	346	90
Man	465	21	756	29
Fru	0	87	0	0

Tabla 5. Concentración de muestra diluida con agua a 1/50 (uM)

	Muestra (i)	Muestra (i) (control)	Muestra (ii)	Muestra (ii) (control)
Ara	19	22	11	22
Gal	33	4	33	5
Glc	32	9	30	4
Xly	13	5	35	9
Man	46	2	76	3
Fru	0	9	0	0

5

Tabla 6. Concentración de muestra (uM, x 50 factor de dilución)

PM		Muestra (i)	Muestra (i) (control)	Muestra (ii)	Muestra (ii) (control)
150,13	Ara	959	1100	561	1117
180,16	Gal	1647	176	1658	261
180,2	Glc	1593	456	1489	182
150,1	Xly	661	247	1731	448
180,16	Man	2325	105	3780	147
	SUMA	7184	2083	9218	2154

Tabla 7. Relación molecular (%)

	Muestra (i)	Muestra (i) (control)	Muestra (ii)	Muestra (ii) (control)
Ara	13	53	6	52
Gal	23	8	18	12
Glc	22	22	16	8
Xly	9	12	19	21
Man	32	5	41	7
SUMA	100	100	100	100

Tabla 8. Peso en 29 ml (mg)

	Muestra (i)	Muestra (i) (control)	Muestra (ii)	Muestra (ii) (control)
Ara	4,2	4,8	2,4	4,9
Gal	8,6	0,9	8,7	1,4
Glc	8,3	2,4	7,8	0,9
Xly	2,9	1,1	7,5	1,9
Man	12,1	0,5	19,7	0,8
SUMA	36,1	9,7	46,2	9,9

10

Tabla 9. Relación en peso (%)

	Muestra (i)	Muestra (i) (control)	Muestra (ii)	Muestra (ii) (control)
Ara	12	49	5	49
Gal	24	9	19	14
Glc	23	25	17	10
Xly	8	11	16	20
Man	34	6	43	8
SUMA	100	100	100	100

Tabla 10. Descripción general de la hidrólisis de azúcar-ácido total

Azúcar	Concentración (μM)				Relación en peso (%)			
	Muestra (i)	Muestra (i) control	Muestra (ii)	Muestra (ii) control	Muestra (i)	Muestra (i) control	Muestra (ii)	Muestra (ii) control
Ara	959	1100	561	1117	12	49	5	49
Gal	1647	176	1658	261	24	9	19	14
Glc	1593	456	1489	182	23	25	17	10
Xyl	661	247	2325	105	8	11	16	20
Man	2325	105	3780	147	34	6	43	8
SUMA	7184	2083	9218	2154	100	100	100	100

Los resultados de la HPLC demostraron que cada muestra analizada era una fracción de hemicelulosa en base al tipo y relación de mono azúcares liberados después de la hidrólisis ácida. Suponiendo 100 mg de mono azúcares totales, las relaciones porcentuales de los azúcares principales después de la hidrólisis ácida para la muestra (ii) fueron las siguientes: Man:Gal:Glc:Xyl:Ara = 43:19:17:16:5.

Ejemplo 6: Extracción de hemicelulosa a partir de suspensión de harina de madera y estabilización del compuesto de lignina/celulosa para producir un producto de bio-aceite

10 Se usó un proceso en etapas para extraer la hemicelulosa de la alimentación de harina de madera y para producir un aceite estable a partir del compuesto restante de lignina/celulosa.

Preparación de suspensión de harina de madera

15 Las suspensión de harina de madera para la extracción de hemicelulosa se preparó a partir de aproximadamente 25 kg de harina de madera. Se añadió agua de tal forma que la suspensión resultante contenía aproximadamente el 18 % de harina de madera y el 82 % de agua.

Extracción de hemicelulosa

20

La hemicelulosa se extrajo de la suspensión como se ha descrito en el Ejemplo 2 anterior, usando las siguientes condiciones:

25 temperatura del reactor 190 °C,
 presión del reactor 31 bar,
 tiempo de residencia 5 minutos,
 tamaño de harina de madera 150 micrómetros (en agua).

30 La torta de filtro resultante (que contenía lignina y celulosa) se transfirió a otro reactor para su procesamiento adicional.

Conversión de lignina/celulosa en producto de bio-aceite

35 La torta de filtro que contenía el compuesto de lignina y celulosa derivada del pre-procesamiento se sometió a tratamiento con etanol acuoso en un reactor. Las condiciones de reacción fueron como se indican a continuación:

Temperatura del reactor:	320 °C
Presión del reactor:	200 bar
Estimación de relación de suspensión de harina de madera (en peso):	5 %
Aditivos - Etanol (80 l)	25 % en volumen
Tiempo de residencia	18 minutos

Análisis de emulsión de bio-aceite

40 La muestra analizada era en base a agua y estaba contenida en una botella de PET. Tomó la forma de una emulsión de color naranja. Un poco de aceite pardo/alquitrán recubría la pared de la botella. Una pequeña cantidad de la emulsión de color naranja se agitó con éter dietílico, dando como resultado en una capa de éter pardo y una capa inferior (acuosa) transparente ligeramente coloreada. La capa de éter se analizó mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GCMS), como la fase aceite pardo/alquitrán, también disuelta en éter.

Resultados de la cromatografía de gases-espectrometría de masas (GCMS)

Los cromatogramas de GCMS revelaron la presencia de muchos compuestos en la emulsión. Los picos más grandes en los informes de GCMS se integraron automáticamente y los espectros de masas asociados con los picos se compararon con una biblioteca de espectros. Después, el software asignó al pico el compuesto de la biblioteca con la coincidencia espectral más cercana. Los ejemplos de compuestos que coincidieron con mayor grado de confianza incluyen:

- 10 (i) Compuestos en emulsión:
- fenol, 2-ciclopenteno-1-ona,
2-metil, metoxifenol,
15 etilmetoxifenol,
metoxipropilfenol.
- (ii) Compuestos en aceite:
- 20 metoxifenol,
etilmetoxifenol,
metoxipropenilfenol

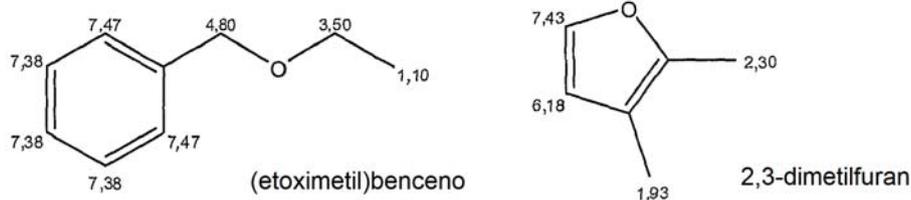
Análisis por RMN protónica

- 25 La muestra de aceite se disolvió en d6-acetona y se registró el espectro de la RMN de protón. Parte de la fase emulsión/agua restante se extrajo con éter dietílico que a continuación se retiró a presión reducida para proporcionar un "extracto de éter" oleoso de color naranja-pardo. La muestra se disolvió en d6-acetona y se registró el espectro de la RMN de protón.
- 30 Los espectros de la RMN del aceite pardo/alquitrán y el extracto de éter fueron complejos. El espectro del aceite en particular tuvo picos anchos, poco definidos. El espectro del extracto de éter se dividió aproximadamente en 5 regiones de desplazamiento químico, de manera que podrían integrarse las señales, proporcionando una idea aproximada de los tipos y abundancias relativas de los grupos funcionales presentes que podían obtenerse (véase la **Tabla 11**). Estas abundancias se redondearon hasta el número entero más cercano (excepto la primera fila) y se
- 35 descartó la posible presencia de señales de disolvente residual (éter, etanol, isopropanol, acetona, agua), así como también las imprecisiones en la integración.

Tabla 11: Análisis de espectros de RMN

Posible entorno químico de protón	Abundancia relativa aproximada de protones	Rango de desplazamiento químico
ArOH o RCHO	0,5	9+
Aromático u olefina	7	9-5
Adyacente a oxígeno	4	5-3
Metileno o metilo aromático	6	3 - 1,2
Metilo	3	<1,2

- 40 Una mezcla compleja de esta naturaleza no puede representarse mediante una pequeña cantidad de compuestos. Para fines conceptuales, una mezcla equimolar de los dos componentes a continuación puede producir integraciones similares para las regiones de desplazamiento químico en la **Tabla 11** anterior (NB: los protones ArOH/RCHO se descartaron a estos efectos).
- 45 Los desplazamientos químicos estimados de los protones se muestran en azul.



También se observó que no había suspensión de madera presente en la emulsión del producto, de lo que se deduce que toda la suspensión se convirtió en aceite y en productos potencialmente gaseosos.

5

Ejemplo 7: Producción de bio-aceite a partir de harina de madera de pino radiata

(i) Condiciones de reacción

10 Para mejorar la calidad del producto de bio-aceite, el efecto de variar el tiempo de retención del reacción y diversas condiciones de reacción se ensayó en harina de madera de pino radiata despojada de hemicelulosa (véase el Ejemplo 2 anterior) en una mezcla de agua y etanol al 5-20 % en peso a presión.

Los ensayos se realizaron en diversas condiciones que se muestran en la **Tabla 12**. La **Tabla 12** enumera la temperatura y presión objetivo en las que se mantuvieron las condiciones de la planta piloto tanto como fue posible.

15

Tabla 12: Variaciones en las condiciones de reacción

Retención del reactor (minutos)	Presión objetivo (bar)	Temperatura objetivo (°C)	Concentración de sólidos en la suspensión (% en peso)
15	120-240	280-350	4-30
5	120-240	280-350	4-30
30	120-240	280-350	4-30

En cada caso, la harina de madera se procesó con éxito para generar un producto líquido que contenía dos fases:

20

1. Una fase acuosa más ligera que contenía productos orgánicos más ligeros que podían extraerse para producir un aceite ligero móvil.
2. Una fase de aceite negro más pesado.

25 (ii) Análisis de producto

Fase de aceite negro

Las muestras del aceite más pesado producidas a partir de retenciones en el reactor de 15 y 30 minutos se analizaron usando cromatografía de permeación sobre gel (GPC) para proporcionar una indicación de distribuciones de peso molecular de diversos compuestos dentro del aceite pesado. Las distribuciones típicas medidas se muestran en la **Figura 2**.

30

Los resultados de la GPC muestran que el aumento del tiempo de retención disminuye la distribución del peso molecular, dando como resultado un aceite más ligero.

35

Una muestra del aceite más pesado producido a partir de una retención en el reactor de 15 minutos se secó retirando el agua unida mediante destilación y después se llevó a cabo un análisis final sobre la muestra seca. Los elementos ensayados y las fracciones en peso medidas se indican en la **Tabla 13**. En una base seca, el pino radiata tiene típicamente un 40 % de oxígeno en peso. A partir de los resultados puede observarse que la muestra de aceite pesado no puede tener más del 19 % de oxígeno, según se determinó por diferencia. Esto representa al menos una reducción del 50 % del contenido de oxígeno en comparación con la materia prima, aumentando en gran medida la energía del aceite pesado en comparación con la materia prima de partida.

40

45

Tabla 13: Análisis final de aceite más pesado con 30 minutos de retención

Elemento	Fracción en peso
Carbono	74,71 %
Hidrógeno	6,39 %
Nitrógeno	0,00 %
Azufre	0,00 %

Se usó una muestra del aceite pesado producido a partir de la retención en el reactor de 30 minutos para el análisis termogravimétrico (TGA). El análisis termogravimétrico (TGA) mide la pérdida de masa de una muestra durante el calentamiento en un flujo de nitrógeno seco. Como se indica por los resultados en la **Figura 3**, el aceite más pesado tiene un intervalo de punto de ebullición muy amplio y es bastante volátil hasta aproximadamente 400 °C.

La GCMS es una técnica que puede usarse para identificar compuestos. Se usa un cromatógrafo de gases (GC) para separar los componentes individuales en una muestra y el resultado del análisis por GC se suministra entonces a un espectrómetro de masas (MS) que ioniza los compuestos y mide la relación masa-carga de los fragmentos. A continuación se comparan los datos con una biblioteca para proporcionar una probable identificación de los compuestos.

Las **Figuras 4 y 5** muestran los datos proporcionados por el análisis por GCMS de las fases acuosa y de aceite más pesado de los productos de retención de 30 minutos. Están presentes cientos de compuestos y los 10 picos más grandes basados en el área se han asignado a partir de la biblioteca de espectros NIST. Las asignaciones proporcionan una indicación de la naturaleza de los aceites que son aromáticos ampliamente oxigenados. La **Figura 4** muestra los resultados del análisis por GCMS de la fase acuosa. La **Figura 5** muestra los resultados del análisis por GCMS de la fase de aceite más pesado.

20

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir un bio-aceite a partir de materia lignocelulósica, comprendiendo el método las etapas de:
- 5 (a) solvatar hemicelulosa a partir de materia lignocelulósica usando un disolvente,
 (b) eliminar la hemicelulosa solvatada de la materia sólida restante después de la etapa (a); y
 (c) solvatar la lignina y la celulosa de la materia sólida restante después de la etapa (a) usando un disolvente a una temperatura de entre 250 °C y 400 °C,
- 10 en el que la etapa (c) de solvatación de la lignina y la celulosa produce el bio-aceite.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha materia lignocelulósica comprende el 10 % - 35 % de hemicelulosa, el 15 % - 45 % de celulosa y el 2 % - 35 % de lignina.
- 15 3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que dicha materia lignocelulósica comprende el 20 % - 35 % de hemicelulosa, el 20 % - 45 % de celulosa y el 20 % - 35 % de lignina.
4. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el disolvente de la etapa (c) es un alcohol acuoso que no comprende más de diez átomos de carbono.
- 20 5. El método de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el alcohol acuoso es etanol o metanol.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 4 o la reivindicación 5, en el que el alcohol acuoso comprende el 1 -30 % de alcohol en peso.
- 25 7. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la etapa (c) se realiza a una temperatura de reacción de entre 280 °C y 350 °C.
- 30 8. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la etapa (c) se realiza a una presión de reacción de entre 12 MPa y 24 MPa.
9. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la lignina y la celulosa de la etapa (c) están en forma de una suspensión espesa, en la que la suspensión comprende entre el 2 % y el 45 % de materia sólida en peso.
- 35 10. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la etapa (c) se realiza durante entre 2 minutos y 60 minutos.
- 40 11. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que la solvatación de hemicelulosa en la etapa (a) se realiza a una temperatura de reacción de entre 100 °C y 250 °C, y una presión de reacción de entre 0,2 MPa y 5 MPa.
12. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el disolvente de la etapa (a) es:
- 45 (i) un ácido acuoso y el tratamiento se realiza a un pH inferior a 6,5;
 (ii) una base acuosa y el tratamiento se realiza a un pH superior a 7,5; o
 (iii) agua.
- 50 13. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que comprende además pretratar la materia lignocelulósica antes de solvatar hemicelulosa en la etapa (a), en el que el pretratamiento comprende producir una suspensión que comprende una mezcla de un disolvente y partículas derivadas de la materia lignocelulósica.
- 55 14. El método de acuerdo con la reivindicación 13, en el que dichas partículas tienen un tamaño entre 100 micrómetros y 1000 micrómetros.
15. El método de acuerdo con la reivindicación 13 o la reivindicación 14, en el que la suspensión

comprende entre el 5 % y el 20 % de materia lignocelulósica.

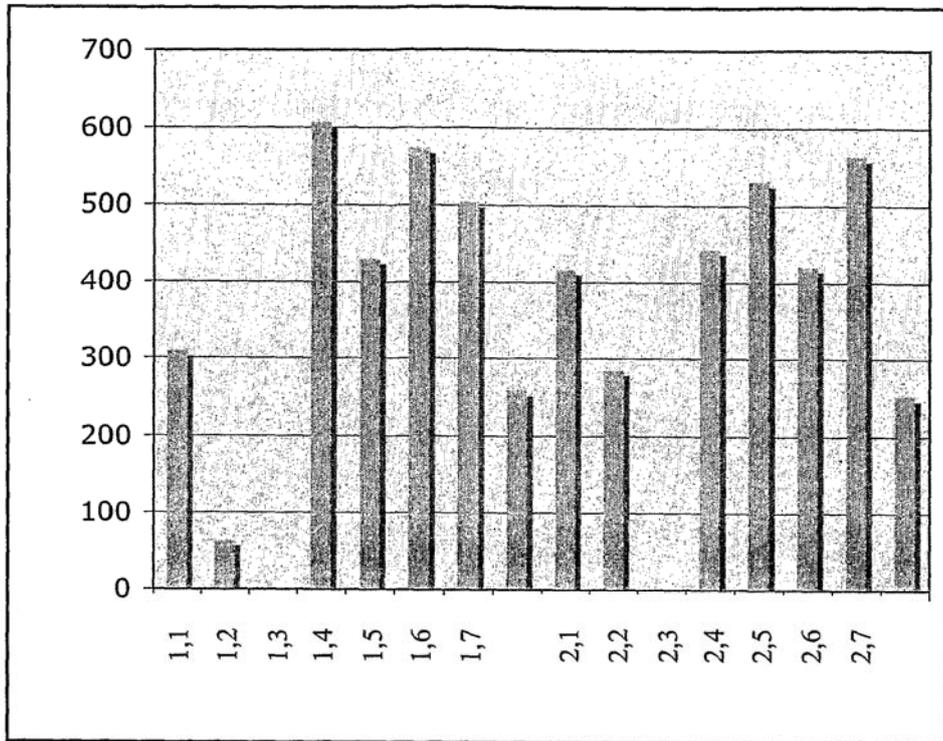


FIGURA 1

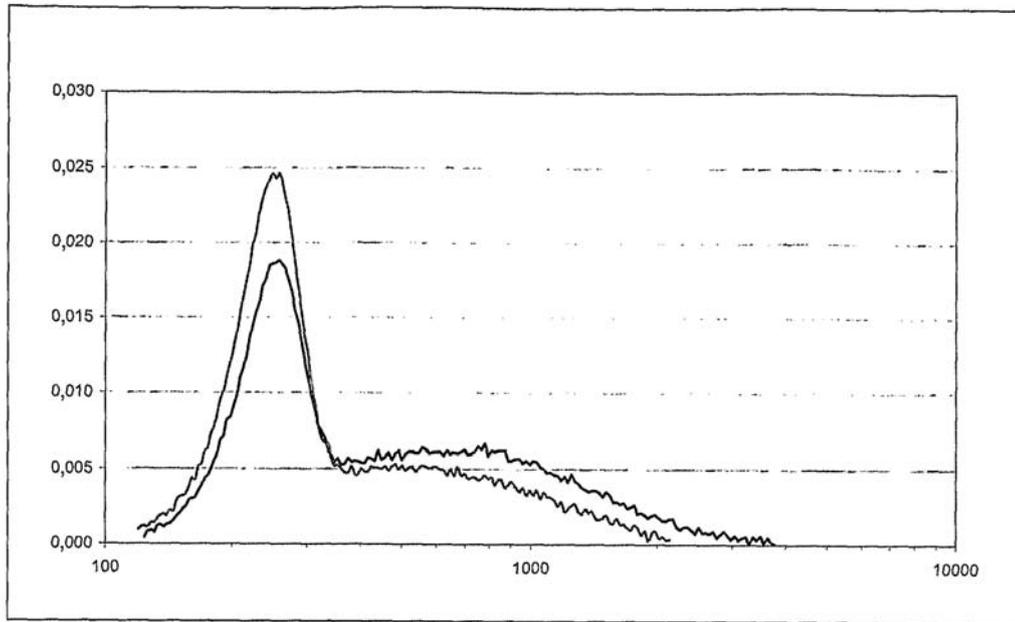


FIGURA 2

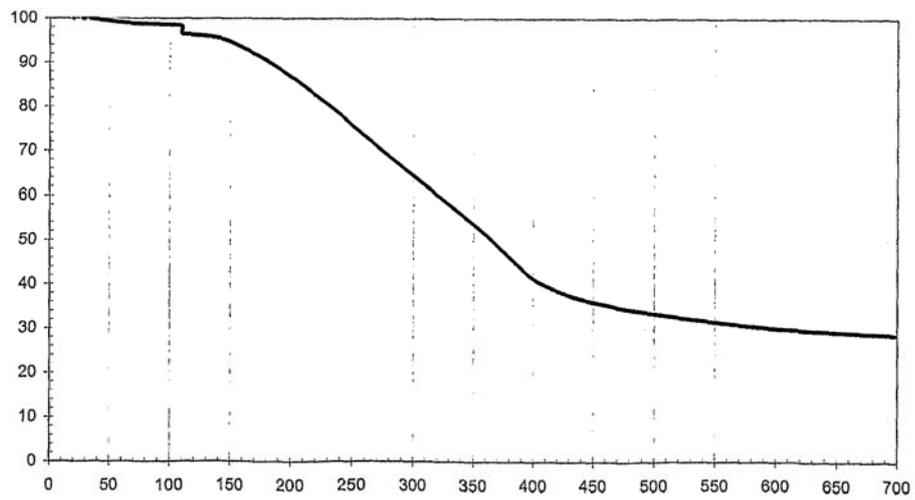
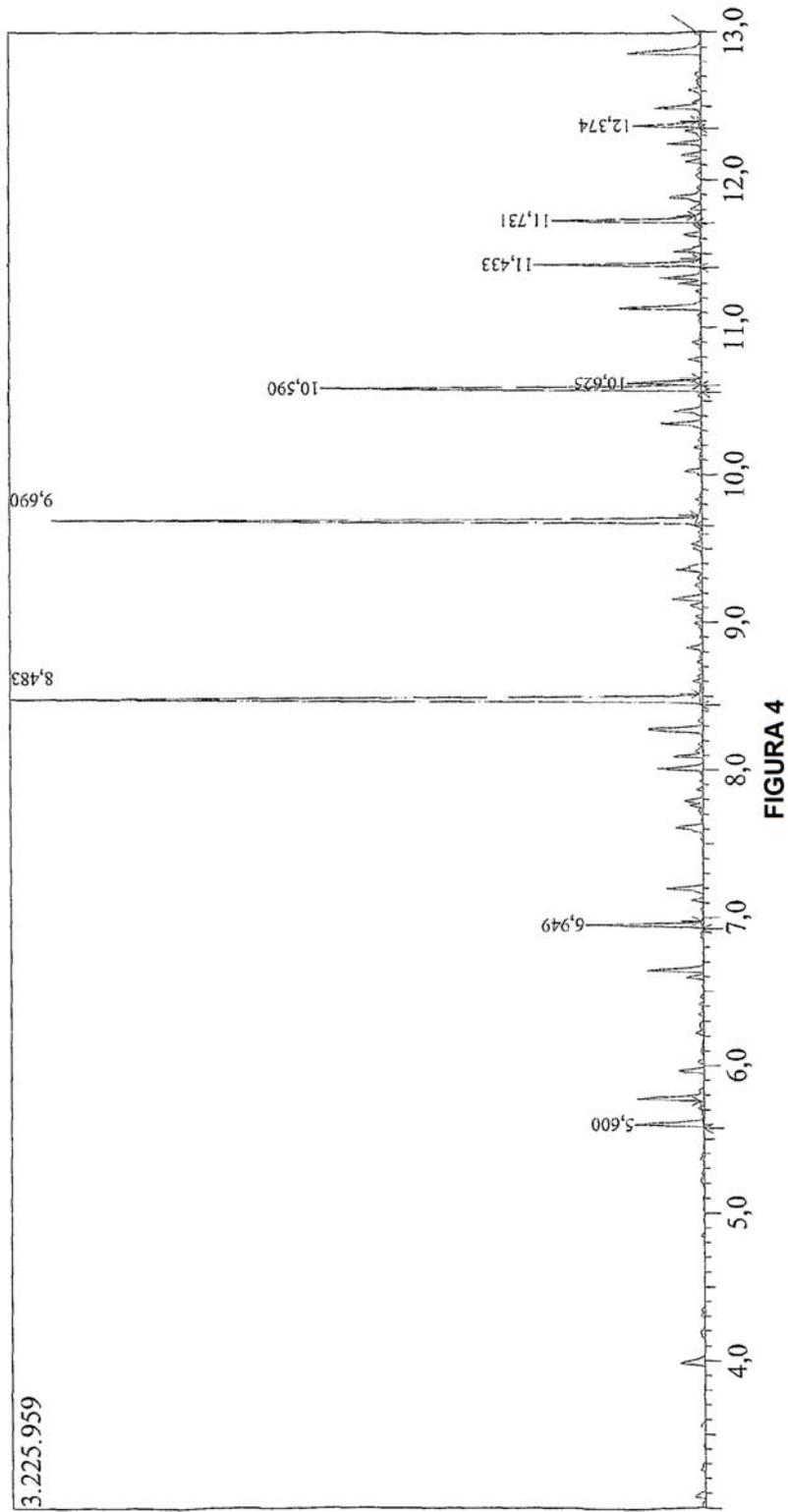


FIGURA 3



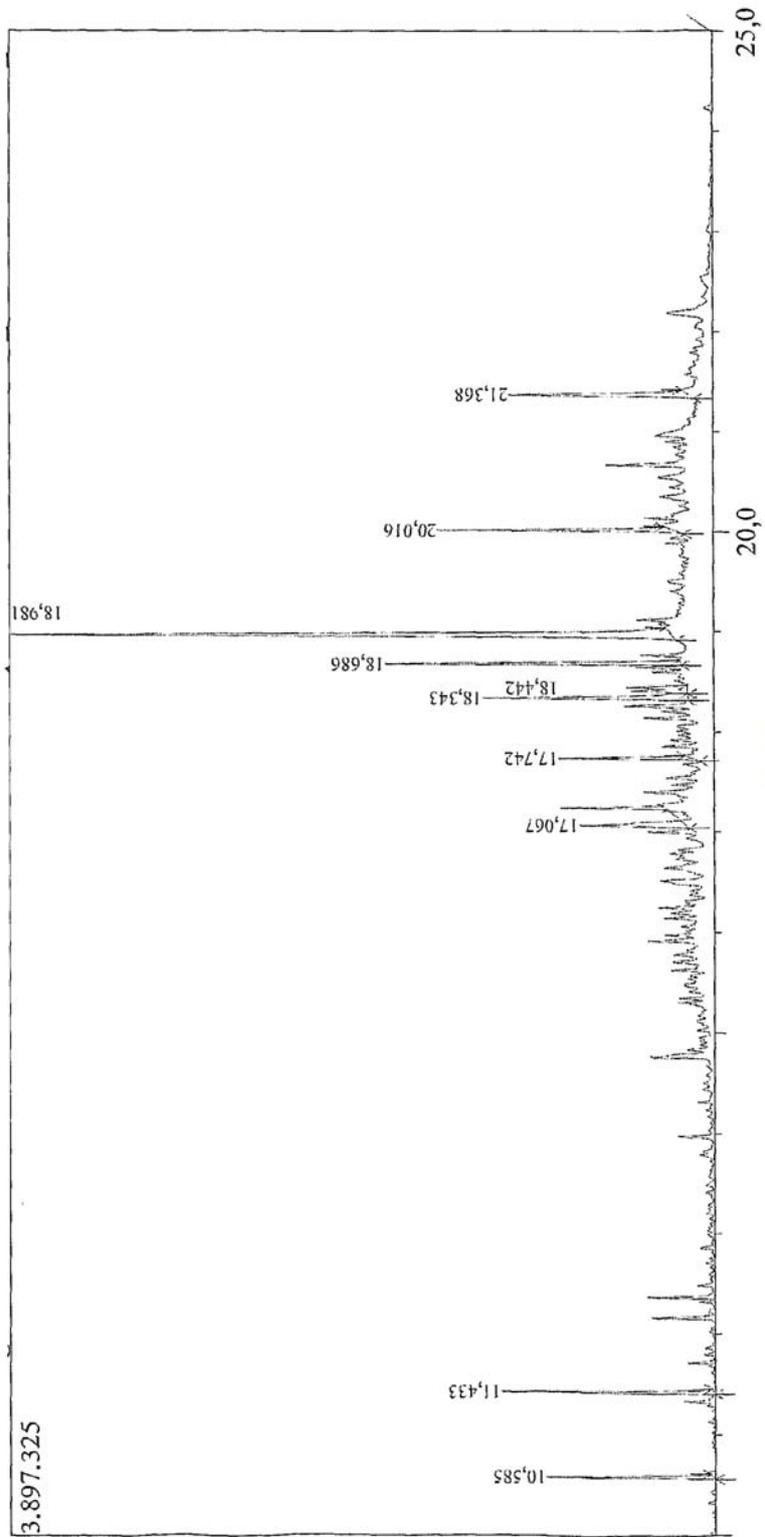


FIGURA 5