

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 741 961**

51 Int. Cl.:

D21C 1/02	(2006.01) C12P 7/10	(2006.01)
D21C 1/04	(2006.01) D21B 1/02	(2006.01)
D21C 1/06	(2006.01)	
D21B 1/12	(2006.01)	
C08B 1/00	(2006.01)	
C08B 1/02	(2006.01)	
C08B 1/06	(2006.01)	
C08H 1/00	(2006.01)	
C08H 1/06	(2006.01)	
C08H 8/00	(2010.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.12.2010 PCT/NL2010/050840**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **16.06.2011 WO11071386**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2010 E 10798641 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2019 EP 2510150**

54 Título: **Método novedoso para procesar material que contiene lignocelulosa**

30 Prioridad:

11.12.2009 EP 09178978

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

12.02.2020

73 Titular/es:

**STICHTING WAGENINGEN RESEARCH (100.0%)
Droevendaalsesteeg 4
6708 PB Wageningen, NL**

72 Inventor/es:

**VAN GROENESTIJN, JOHANNES, WOUTERUS;
JETTEN, JAN, MATTHIJS;
VAN DEVENTER, HENDRICUS, CORNELIS;
SLOMP, RONALD y
SLAGHEK, THEODOOR, MAXIMILIAAN**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

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

ES 2 741 961 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 novedoso para procesar material que contiene lignocelulosa

5 Campo de la invención

La invención se refiere al campo del procesamiento de materias primas derivadas de plantas. Más específicamente, la invención se refiere a la desintegración de lignocelulosa de materiales que contienen lignocelulosa, como madera u otro material vegetal para la producción de productos químicos, por ejemplo, como azúcares de carbohidratos para procesos de fermentación tal como la producción de (bio)etanol. Incluso más específicamente, la presente invención se refiere a aquellos procesos en los que el vapor sobrecalentado se pone en contacto directo con las materias primas en una sola etapa de procesamiento.

15 Antecedentes de la invención

La biomasa lignocelulósica se refiere a la biomasa vegetal que se compone de celulosa, hemicelulosa y lignina. Esta biomasa viene en muchos tipos diferentes, que pueden agruparse en cuatro categorías principales: (1) residuos de madera (incluyendo los descartes de aserraderos y fábricas de papel), (2) residuos de papel municipal, (3) residuos agrícolas (incluyendo rastrojos de maíz y bagazo de caña de azúcar) y (4) cultivos de energía dedicados (que se componen principalmente de hierbas altas y leñosas de crecimiento rápido). En todas estas categorías, los polímeros de carbohidratos (celulosa y hemicelulosas) están fuertemente unidos a la lignina, por hidrógeno y enlaces covalentes.

La fermentación de biomasa lignocelulósica a etanol y butanol es una ruta atractiva para procesar materias primas energéticas que complementan las reservas agotadas de combustibles fósiles. La biomasa es una fuente de energía neutral en carbono, ya que proviene de plantas muertas, lo que significa que la combustión del etanol producido a partir de las lignocelulosas no producirá dióxido de carbono neto en la atmósfera de la tierra. Además, la biomasa está fácilmente disponible, y la fermentación de las lignocelulosas proporciona una forma atractiva de eliminar muchos productos de desecho industriales y agrícolas. Finalmente, la biomasa lignocelulósica es un recurso renovable. Muchos de los cultivos de energía dedicados pueden proporcionar biomasa de alta energía, que se puede cosechar varias veces al año.

Una barrera para la producción de etanol a partir de biomasa es que una gran fracción de los azúcares necesarios para la fermentación está presente en forma de lignocelulosa. La lignocelulosa ha evolucionado para resistir la degradación y para conferir estabilidad hidrolítica y robustez estructural a las paredes celulares de las plantas. Esta robustez o "recalcitrancia" es atribuible a la reticulación entre los polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) y la lignina a través de enlaces éster y éter, creando así un material que es físicamente difícil de acceder. Esto significa que para un uso eficiente de los componentes de la lignocelulosa, la lignocelulosa se debe desintegrar y/o separar y/o cristalizar, para permitir que las enzimas puedan contactar la celulosa y la hemicelulosa para su conversión en oligo y monosacáridos, que luego a su vez puede usarse para muchos propósitos, por ejemplo, para la formación de bioetanol y derivación adicional.

Uno de los métodos más usados para la degradación de la lignocelulosa es el calentamiento de la biomasa húmeda en presencia de un ácido. Con dicho tratamiento se presentan dos problemas principales: 1) el calentamiento solo puede ser corto, porque de lo contrario se forman demasiados subproductos no deseados a partir de los carbohidratos; y 2) es difícil producir una suspensión de biomasa con más de 30 % p/p de sólidos, lo cual es necesario para un uso económico en el procesamiento posterior.

En consecuencia, todavía existe la necesidad de un proceso eficiente en el que la lignocelulosa se degrade para revelar los componentes de la misma para su posterior procesamiento.

50 Resumen de la invención

La presente invención ahora supera las desventajas de la técnica anterior. En consecuencia, la invención se refiere a un método para procesar material de biomasa que comprende lignocelulosa derivada de plantas, que comprende las etapas de:

- 55 a. pretratar dicho material de biomasa con una solución acuosa de ácido o base;
 b. posteriormente, pasar vapor sobrecalentado a través de dicho material de biomasa conduciéndolo a través de una cámara que contiene el material de biomasa, en donde el vapor sobrecalentado se aplica hasta que el material de biomasa se calienta hasta la temperatura de condensación de la corriente a la presión dada y luego continúa durante 1 10 minutos, y, por lo cual la actividad del agua del proceso se controla mediante la temperatura y la presión del vapor sobrecalentado para que sea inferior a 1.

60 En una modalidad preferida, el ácido es ácido sulfúrico (H₂SO₄) o la base se elige del grupo que consiste en hidróxido de calcio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio, hidróxido de amonio o el ácido o la base es cualquier ácido o base formado *in situ*. Preferentemente, el ácido se proporciona en una solución de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 4,0 %.

Cuando se usa una base, preferentemente la base se mezcla con biomasa en una relación de 0,02 a 0,2 gramos de base por gramo de materia seca de biomasa.

5 En otra modalidad preferida, la etapa a) se realiza a una temperatura de aproximadamente 20 a aproximadamente 80 °C. Más preferido es un método de acuerdo con la invención, en donde el vapor sobrecalentado se aplica bajo una presión entre 1 y 10 bar. Más preferido es un método de acuerdo con la invención, en donde la temperatura del vapor sobrecalentado está entre 150 y 220 °C.

10 En otra modalidad preferida, el método de acuerdo con la invención comprende una etapa adicional c) de hidrólisis enzimática adicional (actividad exo y endo), oxidación, eterificación o esterificación del material después del tratamiento con SHS.

15 Más preferido en un método de acuerdo con la invención, el material de biomasa es material vegetal leñoso, que incluye hojas, ramitas, corteza, hierbas, heno, cañas, melasa, paja, astillas de madera, aserrín, bagazo, rastrojos de maíz, mazorcas de maíz, salvado de trigo, torta de prensa de la remolacha azucarera, cáscaras de arroz, palma, coco, fibras de algodón y/o turba, esfagno, torta del filtro de plantas de aguas residuales.

Leyenda a las figuras

20 Figura 1. Perfil de temperatura durante experimentos a pequeña escala (diferentes cargas).
 Figura 2. Recuperación de glucosa después del tratamiento con SHS donde las condiciones de tratamiento se representan por el Factor de Gravedad Combinado (para explicación, ver el texto).
 Figura 3. Perfil de temperatura durante los experimentos de esclado (diferentes cargas).

25 Definiciones

"Biomasa lignocelulósica" se refiere a la biomasa vegetal que se compone de celulosa, hemicelulosa y lignina.

30 "Vapor sobrecalentado" (SHS) es vapor que se calienta (indirectamente) a una temperatura por encima de su temperatura de evaporación. Cuando el agua se calienta, ésta se evapora a vapor a la temperatura de ebullición del agua para formar vapor. Por ejemplo, a presión atmosférica, la temperatura de ebullición del agua es de 100 °C; para presiones más altas, la temperatura de ebullición aumenta. Este vapor todavía está a la temperatura de ebullición y se llama vapor saturado. Cuando el vapor saturado se enfría, inmediatamente se condensa en agua.

35 Sin embargo, cuando este vapor saturado se calienta, la temperatura aumenta mientras la presión se mantiene igual. Este se llama vapor sobrecalentado, SHS o vapor seco. Este SHS puede enfriarse sin condensación inmediata. Solo cuando el SHS se enfría hasta la temperatura de ebullición del agua a la presión dada, comenzará a condensarse.

40 La "actividad del agua" o "Aw" del SHS como medio de procesamiento puede controlarse variando la presión y la temperatura de sobrecalentamiento. La Aw del SHS se define como la presión absoluta real del SHS dividida por la presión que tendría el vapor saturado a esa temperatura real del SHS.

En la fórmula: $A_w = P_{SHS} / P_{vapor\ saturado\ a\ T\ SHS}$
 (P = presión absoluta)

45 Algunos ejemplos:

Presión absoluta SHS (bar)	Temperatura SHS (°C)	Presión absoluta del vapor saturado a temperatura SHS (bar)	Aw
1	120	2	1 / 2 = 0,50
1	144	4	1 / 4 = 0,25
1	159	6	1 / 6 = 0,17
1	180	10	1 / 10 = 0,10
2	144	4	2 / 4 = 0,50
2	159	6	2 / 6 = 0,33
2	180	10	2 / 10 = 0,2

65

4	159	6	4 / 6 = 0.67
4	180	10	4 / 10 = 0.40
6	180	10	6 / 10 = 0.60

Esto hace que SHS sea único en el aire caliente, donde el valor de Aw siempre es muy bajo, normalmente inferior a 0,01.

"gravedad del tratamiento" se define como el grado en que están presentes las condiciones reactivas y destructivas.

"Factor de gravedad combinado" o "CSF" describe la gravedad de varios pretratamientos catalizados con ácido combinando tiempo, temperatura y concentración del ácido. El factor de gravedad combinado (CSF) viene dado por:

$$CSF = \log_{10}\{t_r \cdot \exp[(T_r - 100) / 14,75]\} - pH$$

en el que T_r es la temperatura de reacción en grados Celsius y t_r es el tiempo de reacción en minutos. El valor del pH se calcula a partir de la concentración de ácido sulfúrico dentro de las fibras al comienzo del tratamiento (material preimpregnado).

Descripción detallada

El calentamiento de una suspensión de lignocelulosa para degradarla y hacer que los componentes individuales estén disponibles para su posterior procesamiento se ha realizado de varias maneras en la técnica anterior. En consecuencia, los métodos para aplicar calor al material con vapor sobrecalentado (SHS) se conocen desde hace mucho tiempo. De hecho, una de las primeras descripciones de tal método es GB 127,388 de 1918 (!), en el que se describe un proceso para fabricar forraje a partir de, por ejemplo, turba o esfagno, que implica un tratamiento ácido del biomaterial en un autoclave a una presión relativamente baja mientras se calienta (secado) con SHS. La diferencia principal entre esta publicación y la presente invención es el hecho de que en el documento GB 127,388 no se lleva a cabo un pretratamiento con ácido y el vapor se aplica en un recipiente cerrado y no en un sistema en el que el vapor pasa a través del material.

Una acción de secado de SHS similar a la usada en la presente invención también se describe en el documento GB 541,960. Sin embargo, en este documento no se usa tratamiento ácido para desintegrar el biomaterial, sino que el material se empapa con vapor (normal, saturado) a alta presión. Un sistema similar se describe en el documento US 5,328,562 en el que se usa un proceso de dos etapas de calentamiento inicial del biomaterial húmedo a presión seguido de secado con SHS para producir biomaterial hidrolizado. Parece que la hidrólisis debe realizarse sin la adición de ningún producto químico.

Otro tratamiento con SHS se describe en el documento GB 491,842, pero aquí el biomaterial es (pre)tratado con sosa (cáustica) y no con ácido.

Un proceso que se asemeja al proceso de la invención se describe en el documento GB 349,032 en donde las astillas de madera se impregnan con ácido sulfúrico y luego se someten a tratamiento SHS. La diferencia principal es que este proceso básicamente parte de la celulosa y no de la lignocelulosa, lo que implica que el objetivo del tratamiento no es la degradación de la lignocelulosa y la descripción de sus componentes, sino la reacción de la celulosa en azúcares. El pretratamiento ácido se efectúa con un gran volumen de una solución ácida diluida (0,25 - 1 %), después de lo cual se elimina la mayor parte de la solución ácida y la reacción continúa durante varias horas a presión elevada a una temperatura de aproximadamente 150 °C que se mantiene pasando SHS a través del material. Por lo tanto, aunque se aplican etapas similares en este proceso, el objetivo es diferente y las diferencias en la temperatura y duración del proceso son evidentes y explicables para este objetivo diferente.

Otro documento de la técnica anterior es el documento US 2003/199049 (patentada como US 6,660,506). Este documento describe un proceso en el que la biomasa se impregna con ácido y en donde la biomasa se seca, por ejemplo, con SHS, después de lo cual tiene lugar una hidrólisis caliente. La diferencia entre el proceso descrito en este documento con la presente invención es que las etapas de secado e hidrólisis en la presente invención tienen lugar simultáneamente en uno y el mismo reactor. La combinación de estas etapas ofrece la ventaja de un aumento gradual de la temperatura que hace que primero se degrade la hemicelulosa y luego se desicristalice la celulosa.

Existen muchos documentos de la técnica anterior que aplican vapor a alta temperatura a una biomasa, la cual se trata previamente o no, pero solo la aplicación del SHS solo influye en la superficie de la biomasa que se contacta. En la presente invención, el efecto del SHS se incrementa por el hecho de que el SHS se pasa a través de la biomasa, lo que significa que el efecto del tratamiento con SHS también se proporciona dentro de la biomasa. Por supuesto, el efecto aumenta aún más si la estructura de la biomasa es tal que el SHS puede alcanzar fácilmente las partes no superficiales. Por lo tanto, una estructura porosa de la biomasa o un relleno muy suelto del biomaterial mejora en gran medida el efecto de secado del SHS.

Según la invención, el material que contiene lignocelulosa se impregna con ácido o base.

5 Como ácido o base, en principio, cualquier ácido o base inorgánico u orgánico podría usarse, pero por razones económicas se prefieren los ácidos fuertes porque incluso una solución diluida de tales ácidos fuertes tiene suficiente acción hidrolítica para poder revelar los polisacáridos del material de lignocelulosa. Además, dado que el tratamiento con ácido se realiza preferentemente a una temperatura elevada (de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 200 °C) la solución ácida debe permanecer estable en este intervalo de temperatura. Lo más preferentemente se usa ácido sulfúrico. El ácido se agrega para proporcionar una concentración final de aproximadamente 0,1 % a 4 % (pero esto puede variar aún más en función del ácido particular usado). Para el ácido sulfúrico, preferentemente se usa de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 3,0 %, más preferentemente se usa aproximadamente 2 %.

15 Como base se usa preferentemente un hidróxido, tal como hidróxido de calcio, hidróxido de sodio o hidróxido de potasio o hidróxido de amoníaco.

Además como ácido o base cualquier base o ácido formado *in situ* (tal como el ácido acético) dentro del proceso pueden ser aplicables.

20 La incubación del biomaterial con el ácido o la base se realiza durante aproximadamente 1 hora a aproximadamente 24 horas. El tiempo de incubación óptimo depende de la apertura del material: cuanto más suelto éste el material de relleno, menos tiempo de incubación se necesita. Para la paja, el tiempo de incubación óptimo es de aproximadamente tres horas. La madera requerirá períodos de incubación más largos y estos dependerán del tamaño de las astillas de madera usadas.

25 La incubación con ácido o base también se realiza preferentemente a una temperatura elevada. Generalmente, el proceso se ejecutará satisfactoriamente a una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 80 °C, más preferentemente a una temperatura de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 65 °C.

30 Después de la incubación, la suspensión que consiste en el biomaterial y la solución ácida o básica, se coloca en un proceso de vapor o, definido más generalmente, en un entorno, preferentemente un entorno cerrado, en el que el vapor sobrecalentado se puede conducir a través de la biomasa. El proceso de desintegración completo con SHS se realiza preferentemente bajo una presión aumentada. Durante este proceso de desintegración en SHS también se produce el secado, lo que resulta en una biomasa desintegrada con un menor contenido de agua. Se puede realizar bajo presión atmosférica (1 Bar) hasta 10 Bar, pero preferentemente se realiza bajo una presión de 2-7 Bar, más preferentemente 6 Bar.

35 Se produce vapor con una temperatura de entre aproximadamente 150 °C y 220 °C (vapor sobrecalentado, SHS) y se conduce a través de la cámara con la biomasa. Preferentemente se usa vapor de aproximadamente 170 °C - 180 °C. Como en el caso con la incubación ácida, también aquí el tiempo que se necesita para desintegrar la biomasa con el SHS depende de la apertura de la biomasa: cuanto menos denso sea el relleno, más oportunidades hay de que el vapor llegue a la superficie del material de biomasa, y más rápido ocurrirá el proceso de desintegración y secado. Cuando se aplica el vapor, la biomasa se calienta rápidamente a la temperatura de condensación del vapor a la presión dada, por ejemplo a 6 bar a aproximadamente 159 °C. Esta mantendrá esta temperatura durante un cierto tiempo siempre que la superficie de la biomasa esté todavía húmeda. Cuando, debido al efecto de secado de SHS, la superficie se seca (localmente), la biomasa se calentará aún más a un nivel superior. La aplicación de vapor continúa a este nivel superior durante aproximadamente 1 a 10 minutos, más preferentemente de 1 a 5 minutos. Después de eso, se detiene la aplicación de vapor, si es necesario, la presión vuelve a la presión atmosférica abriendo la cámara de presión, y la biomasa se deja enfriar.

50 Durante la etapa de secado del proceso, la Aw se mantiene preferentemente constante. Esto permite la aplicación de temperaturas más altas (lo que, a su vez, dará como resultado una mejor liberación e hidrólisis) y también permitiría reducir al mínimo el ácido necesario para el proceso. La Aw se puede mantener fácilmente constante en SHS manteniendo constantes tanto la presión como la temperatura del SHS. Preferentemente, la Aw del proceso se controla por medio de la temperatura y la presión del vapor sobrecalentado para que sea menor que 1, preferentemente menor que 0,8, más preferentemente en el intervalo de 0,4-0,8.

55 Durante el secado de la biomasa empapada en ácido o base, la hidrólisis de la lignocelulosa continúa de una manera única: debido a que la concentración de ácido o base aumenta debido a la evaporación del agua y la temperatura aumenta durante este proceso, primero la hemicelulosa (que se encuentra en el exterior de las fibras de lignocelulosa) se degrada parcialmente, luego se rompen los enlaces entre la lignina y los polisacáridos, después de lo cual se descristaliza la celulosa restante.

60 Por lo tanto, el proceso descrito anteriormente da como resultado una biomasa en la que los polisacáridos se liberan del complejo de lignocelulosa y estarán disponibles libremente para una hidrólisis posterior, por ejemplo, mediante la adición de enzimas que degradan la celulosa y/o la lignina, o derivaciones o funcionalización mediante acilación, oxidación, esterificación, eterificación, carboximetilación, etc. En los ejemplos se muestra que debido a la mayor velocidad de

liberación de los polisacáridos, los rendimientos de las derivaciones/funcionalizaciones posteriores son mayores con una biomasa preprocesada de acuerdo con la invención.

5 Además, ventajosamente, parece posible alcanzar mayores contenidos de peso sólido seco (que van del 25-65 %) en la suspensión de biomasa resultante, lo que hace posible alimentar las fermentaciones posteriores con material altamente concentrado y alcanzar altos títulos del producto de fermentación deseado (p. ej., en un proceso de sacarificación y fermentación simultáneo de lote alimentado). Esto también es ventajoso para el procesamiento posterior, ya que se debe eliminar menos agua de la suspensión de biomasa. Además, parece que la hidrólisis enzimática después de este nuevo método para el tratamiento previo de la lignocelulosa es muy efectiva y se pueden obtener rendimientos de más de 90 % de conversión en glucosa y xilosa. La xilosa obtenida puede reducirse y usarse para la producción de xilitol. Además, algunos subproductos que obstaculizarían la hidrólisis y fermentación posterior, como furfural, HMF, ácido acético y ácido levulínico, están ausentes o solo están presentes en pequeñas cantidades en la suspensión de biomasa resultante.

15 EJEMPLOS

Ejemplo 1 - Biomasa de paja de trigo

20 Antes del tratamiento con vapor sobrecalentado, la paja de trigo seca (12 h 95 °C) se preimpregnó en solución de H₂SO₄ durante 3 horas a 60 °C y 8 % de concentración de materia seca para obtener la H concentración de H₂SO₄ deseada dentro de las fibras. Después de la impregnación, el líquido libre se eliminó por filtración.

25 Todos los tratamientos con vapor se llevaron a cabo a 6 bar en el equipo de vapor sobrecalentado del laboratorio piloto TNO. Después de insertar la paja de trigo en el equipo de vapor, se puede alcanzar esta presión inmediatamente. Para explorar el efecto de las condiciones de reacción, se aplicaron diferentes temperaturas, concentraciones de sulfato y tiempos de calentamiento. El efecto del tratamiento sobre la accesibilidad de los polisacáridos se probó por hidrólisis enzimática. Para evitar la inhibición del producto durante la hidrólisis, la materia seca se diluyó con agua. Esta dilución solo se realizó con fines de determinación.

30 Se usaron muestras de aproximadamente 45 gramos de paja de trigo impregnada (\pm 10 gramos de materia seca). Después del secado al vapor, se añadió agua a las muestras para obtener concentraciones de materia seca de 5 %. El pH se ajustó a 5 con hidróxido de calcio. La carga de la enzima fue de 0,24 ml de GC220 (una mezcla de celulosa y hemicelulasas de Genencor) y 0,018 ml de NS50010 (celobiasa de Novozymes) por gramo de materia seca. Se añadieron 10 ml de penstrep por litro de hidrolizado y la hidrólisis enzimática se realizó durante 3 días a 50 °C.

35 Para la ampliación se usaron dos configuraciones. Primero se usó una rejilla cubierta con un grueso lecho de paja de trigo. La carga máxima para cubrir la rejilla fue 2000 gramos de paja de trigo impregnada (\pm 470 g de materia seca). Luego, se usó una canasta giratoria para mezclar la paja de trigo con condiciones iguales para la muestra completa. La carga máxima fue de 1250 gramos de material impregnado (\pm 250 g de materia seca). Las condiciones que se encontraron óptimas durante los experimentos a pequeña escala se aplicaron durante el escalado. Después del tratamiento con vapor sobrecalentado, se usó una pequeña fracción de la paja de trigo para la hidrólisis. La hidrólisis se realizó de la misma manera que se describe para los experimentos a pequeña escala.

45 Para determinar las eficiencias, la glucosa se midió mediante un ensayo enzimático. Otros monosacáridos y ácidos orgánicos se midieron con cromatografía de gas-espectrometría de masa (GC-MS). El HMF y furfural se midieron con microextracción en fase sólida (SPME).

1.1.1 Resultados de experimentos a pequeña escala

50 Para determinar la temperatura durante los tratamientos con vapor sobrecalentado, se midió la temperatura dentro del reactor. Un ejemplo se da en la Figura 1.

55 Durante los tratamientos, la temperatura requerida se alcanzó después de 30 segundos a aproximadamente 160 °C. La temperatura en el reactor se representa en la Figura 1. La temperatura dentro de las fibras puede seguir un patrón diferente; calentamiento rápido hasta 159 °C (temperatura de ebullición a 6 bar) seguido de evaporación del agua y aumento inherente de las temperaturas.

60 La Tabla A proporciona los resultados para varias condiciones de SHS, usando la experiencia previa obtenida con experimentos de autoclave. Las concentraciones de ácido sulfúrico fueron comparables con los pretratamientos en autoclave de ácido diluido (1,5 - 3 % H₂SO₄). Las muestras de paja de trigo contenían aproximadamente 20 % de materia seca después de la impregnación previa. El contenido de glucosa de la paja de trigo usada para estos experimentos fue de 0,343 g/g de DM (determinado con el método descrito por Cao y otros 1997), que era el máximo teórico.

Tabla A. Tratamientos con SHS a pequeña escala, concentraciones de sulfato entre 1,5 y 3 %

65

ES 2 741 961 T3

Condiciones de SHS			Después del tratamiento con SHS		
Temp. (°C)	Tiempo (min)	H2SO4 (%)	H2SO4 (%)	Materia Seca (%)	Producción de glucosa (g/g DM)
5	155	1,5	2,9	19	0,27
	"	2,0	3,6	22	0,29
10	"	3,0	4,8	24	0,29
	160	1,5	3,4	25	0,23
	"	2,0	4,0	26	0,18
15	"	3,0	5,3	27	0,23
	160	1,5	3,2	28	0,29
20	"	2,0	4,1	32	0,27
	160	2,5	3,2	27	0,29
	"	2,0	3,9	30	0,29
25	"	3,0	4,7	28	0,31
	160	3,5	3,1	21	0,32
30	"	2,0	4,4	29	0,33
	"	3,0	4,7	24	0,31
	165	1,5	3,3	29	0,25
35	"	2,0	4,2	33	0,23
	"	3,0	4,8	28	0,28
	165	1,5	3,4	26	0,28
40	"	2,0	4,3	28	0,25
	"	3,0	5,7	29	0,27
	170	1,5	3,9	30	0,18
45	"	2,0	4,5	30	0,21
	"	3,0	5,3	27	0,22
	170	1,5	4,0	28	0,32
	170	2,5	4,0	37	0,27
55	"	2,0	4,6	37	0,29
	"	3,0	6,4	38	0,28
	170	6,5	4,1	29	0,11
60	175	1,5	6,2	48	0,26

65

ES 2 741 961 T3

175	3,5	1,5	8,0	56	0,29
"	"	2,0	6,8	44	0,32
"	"	3,0	10,0	47	0,31
180	1,5	1,5	4,6	37	0,28
"	"	2,0	4,8	32	0,24
"	"	3,0	6,2	32	0,25
180	3,5	2,0	12,3	65	0,28
180	6,5	2,0	11,0	62	0,21
190	1	1,5	5,0	40	0,24
"	"	2,0	4,9	33	0,27
"	"	3,0	6,2	32	0,26
190	1,5	2,0	7,1	49	0,28

Las actividades del agua en este experimento variaron de 0,47 (a 190 °C) a 0,75 (a 170 °C) y de 0,97 (a 160 °C) a 1,0 (a 155 °C), todo a una presión de 6 bar. Después del tratamiento con SHS, la concentración de materia seca aumentó. Las temperaturas de reacción más altas dieron más evaporación de agua y mayores concentraciones de sulfato y materia seca. El aumento de la concentración de materia seca es ventajoso para la economía de los procesos de fermentación: el aumento de la materia seca proporciona mayores concentraciones de azúcar y, posteriormente, de etanol.

Se pueden aplicar temperaturas que oscilan entre 155 y 190 °C para obtener producciones de glucosa superiores a 0,28 g/g de MS. La variación de la concentración de sulfato (1,5 a 3 %) o el tiempo de reacción (1,5 a 3,5 minutos) no dio grandes fluctuaciones en la producción de glucosa. Una amplia gama de parámetros de gravedad alcanza alto rendimiento y, por lo tanto, el óptimo es amplio.

Para algunos tratamientos con SHS se determinan las producciones de xilosa, arabinosa, HMF y furfural (inhibidores durante la fermentación). La Tabla B proporciona estos valores.

Tabla B. Producción de monosacáridos e inhibidores después de SHS

Condiciones de SHS			Producción				
Temp (°C)	Tiempo (min)	H2SO4 (%)	Glucosa (g/g DS)	Arabinosa (g/g DS)	Xilosa (g/g DS)	HMF* (g/g DS)	furfural* (g/g DS)
160	1,5	1,5	0,29	0,02	0,19	<0,001	<0,001
"	"	2,0	0,27	0,02	0,19	<0,001	<0,001
160	2,5	1,5	0,29	0,02	0,19	<0,001	<0,001
"	"	2,0	0,29	0,01	0,18	<0,001	<0,001
"	"	3,0	0,31	0,02	0,19	<0,001	<0,001
170	1,5	2,0	0,32	0,01	0,21	<0,001	<0,001

5	170	2,5	1,5	0,27	0,01	0,17	<0,001	<0,001
	"	"	2,0	0,29	0,01	0,17	<0,001	<0,001
	"	"	3,0	0,28	0,01	0,15	<0,001	<0,001
10	180	1,5	2,0	0,29	0,01	0,19	<0,001	<0,001
	180	3,5	0,5	0,19	0,02	0,16	<0,001	<0,001
15	"	"	2,0	0,28	0,01	0,13	<0,001	<0,001
	190	1,5	0,5	0,13	0,02	0,12	<0,001	<0,001
20	"	"	2,0	0,28	0,01	0,17	<0,001	<0,001
	190	6,5	0,5	0,17	0,01	0,13	<0,001	<0,001
25	*Por debajo de 0,05 g/l							

El contenido de xilosa de la paja de trigo fue de 0,19 g/g de DM (método de acuerdo con Cao y *otros*, 1997). Inherente al aumento de la producción de glucosa, la producción de xilosa aumentó. Casi toda la xilosa se recuperó durante los tratamientos SHS óptimos. HMF y furfural no se encontraron en los hidrolizados. Estos inhibidores son componentes volátiles y probablemente se evaporan durante el tratamiento con vapor. La eliminación de estos inhibidores durante el tratamiento con SHS fue muy ventajosa para la fermentación.

El factor de gravedad combinado (CSF) describe la gravedad de varios pretratamientos catalizados por ácido combinando tiempo, temperatura y concentración de ácido (Bower y *otros* 2008). Es un factor que se usa ampliamente en la técnica. Los valores demasiado bajos conducen a un pretratamiento incompleto y valores demasiado altos a la producción de furfural y HMF a partir de monosacáridos. El factor de gravedad combinado viene dado por:

$$CSF = \log_{10}\{t_r \cdot \exp[(T_r - 100) / 14.75]\} - pH$$

en el que T_r es la temperatura de reacción en grados Celsius y t_r es el tiempo de reacción en minutos. El valor del pH se calcula a partir de la concentración de ácido sulfúrico dentro de las fibras al comienzo del tratamiento (material preimpregnado).

La Figura 2 proporciona la recuperación de glucosa después del tratamiento con SHS donde las condiciones de tratamiento se representan por el CSF.

La recuperación de glucosa parece alcanzar un pico en un CSF entre 1,5 y 2. Esto confirma que las condiciones óptimas se pueden encontrar en un amplio rango razonable de gravedad.

Además del uso de SHS para el pretratamiento con ácido diluido, el calentamiento con SHS también puede ser interesante para el pretratamiento térmico con ácido suave. En este método se usan cantidades más bajas de ácidos, pero tiempos de reacción más largos.

La Tabla C proporciona los resultados para optimizar las condiciones de SHS, mientras que las concentraciones de ácido sulfúrico se usaron comparables con los pretratamientos térmicos con ácido suave (0,1 - 0,5 % H_2SO_4).

Tabla C. Tratamientos SHS a pequeña escala, concentraciones de sulfato entre 0,1 y 0,5 %

Condiciones de SHS			Después del tratamiento con SHS		
Temp. (°C)	Tiempo (min)	H2SO4 (%)	H2SO4 (%)	Materia Seca (%)	Producción de glucosa (g/g DM)
180	3,5	0,1	2,3	66	0,11
"	"	0,5	3,0	49	0,19
180	6,5	0,1	4,7	91	0,09
"	"	0,5	64,6	98	0,05
190	1,5	0,1	2,1	51	0,08
"	"	0,5	2,6	39	0,13
190	6,5	0,1	4,4	90	0,07
"	"	0,5	4,1	64	0,17
160	15,0	pH 2	-	20	0,23
160	30,0	pH 2	-	22	0,24
160 -> 170 (*)	25,3	pH 2	-	40	0,20
* 15 min 160 °C, 10 min 170 °C					

Los pretratamientos térmicos con ácido suave comprenden altas temperaturas y largos tiempos de reacción. Como resultado, las concentraciones de materia seca después del tratamiento con SHS fueron muy altas, lo cual es ventajoso para la fermentación. Sin embargo, la recuperación de glucosa no fue superior a 0,17 g/g de DM (50 % de rendimiento). Los pretratamientos térmicos con ácido suave necesitan tiempos de reacción de > 15 minutos junto con temperaturas de alrededor de 190 °C. Esta combinación de tiempo y temperatura proporciona el secado del material a una presión de funcionamiento de 6 bar (el punto de ebullición es 159 °C). Sin la presencia de agua, el calentamiento no tiene efecto y los tiempos de reacción > 6,5 minutos y temperaturas > 180 °C ya no mejorarán la recuperación de glucosa.

Son posibles tiempos de reacción más largos si la temperatura está cerca del punto de ebullición a 6 bar. Por lo tanto, se aplicaron 160 °C junto con tiempos de reacción de 15 y 30 minutos. En lugar de agregar una cierta cantidad de sulfato, el valor del pH se fijó en 2 durante la preimpregnación de la paja de trigo (aproximadamente 0,1 % de H₂SO₄). Los tiempos de reacción más largos dieron una producción mayor de glucosa. Si la temperatura se elevó a 170 °C después de 15 minutos, el rendimiento disminuyó debido a la degradación de la glucosa. La recuperación de xilosa fue muy alta (0,17 g/g de DM) durante el calentamiento durante 15 y 30 minutos a 160 °C (no se muestra en la tabla). 15 minutos de calentamiento a 165 °C a pH de 1,5 (aproximadamente 0,4 % H₂SO₄) dio, después de la hidrólisis enzimática, una recuperación de glucosa de 0,33 g/g de DM).

Resultados del escalado del tratamiento con SHS

Las condiciones óptimas para el sustrato de paja parecían ser 160 °C - 170 °C, 2,0 % H₂SO₄ y 3,5 minutos (Tabla B). La recuperación de glucosa fue de 0,33 g/g de DM, que es una eficiencia del 96 %. Estas condiciones se usaron para investigar el escalado del pretratamiento con SHS. La Tabla D proporciona los resultados de los experimentos.

Tabla D. Escalado del tratamiento con SHS

Condiciones de SHS					Después del tratamiento con SHS	
Configuración	Masa WS	Temp,	Tiempo	H2SO4	Materia Seca	Producción de glucosa
	(g)	(°C)	(min)	(%)	(%)	(g/g DS)
Rejilla	175	160	3,5	2	25,9	0,33
Rejilla	175	165	3,5	2	28,0	0,33
Rejilla	175	170	3,5	2	31,9	0,31
Rejilla	440	160	3,5	2	28,3	0,31
Cesta giratoria	258	160	3,5	2	23,5	0,33
Cesta giratoria	258	160	3,5	2	24,2	0,32

Cubrir la rejilla con paja de trigo impregnada de 750 gramos (175 g de materia seca) y sin mezclar dio la misma eficiencia (0,33 g/g de DM) que la alcanzada en experimentos a pequeña escala. Más carga (440 g de materia seca) disminuyó ligeramente la recuperación de glucosa. El vapor entró en el elcho de paja de trigo desde arriba. Al pasar por el lecho, el vapor perdió calor y la gravedad del tratamiento disminuyó. Una pequeña muestra colocada en una cesta debajo del lecho de paja de trigo durante el tratamiento de la carga de 440 g confirmó esto. La recuperación de glucosa para esa muestra fue de solo 0,26 g/g de MD.

Se usó una cesta giratoria para mezclar la paja de trigo durante el tratamiento térmico y lograr condiciones iguales para la muestra completa. La carga máxima fue de 1250 gramos de paja de trigo preimpregnada (260 gramos de materia seca) y la recuperación de glucosa aún fue de 0,33 g/g de DM. La recuperación de xilosa también fue alta (0,18 g/g de DM). Los inhibidores de fermentación también se midieron en el hidrolizado. Parecía que no había HMF, furfural, ácido levulínico ni ácido acético. Estos componentes, coincidentemente con los 4 inhibidores de fermentación principales más notorios, probablemente se evaporan durante el tratamiento con SHS.

La Figura 3 muestra que el período de calentamiento para los experimentos a gran escala fue tan corto como el de los experimentos a pequeña escala.

Referencias:

Bower S, Wickramadinghe R, Nagle NJ, Schell DJ (2008) Modeling sucrose hydrolyses in dilute acid solutions at the pretreatment conditions for lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 99:7354-7362
 Cao B, Tschirner U, Ramaswamy, S, Webb A. 1997. A rapid modified gas chromatographic method for carbohydrate analysis of wood pulps. *TAPPI Journal* 80(9):193-197

Ejemplo de Referencia

2 - Biomasa de plumas de pollo

Plumas de pollo tratadas con SHS. Se aplicaron varias circunstancias como se indica en la Tabla 1.

Antes de que las plumas de pollo se traten con vapor sobrecalentado, las plumas se pretratan sumergiéndolas 3 horas a 50 °C en una solución de hidróxido de sodio 0,1 M. Después del remojo, las plumas se enfriaron a temperatura ambiente y se secaron durante la noche.

Tabla 1

Método	1	2	3	4	5
Presión	4	2	3	5	5
Temperatura (°C)	160	120	143	160	160
Flujo	160-180	160-180	160-180	160-180	160-180
Tiempo (min)	10	10	10	10	5
Peso (g)	300	300	300	300	300
Después del secado (g)	270	300	290	275	250
Humedad (%)	69,9	65,2	69,0	65,2	63,4

Experimento 1:

En 100 ml de agua que contenía 2,5 g de hidróxido de calcio, se añadieron 7,5 g (peso seco) de plumas de pollo tratadas con SHS de acuerdo con el método 5. La mezcla se calienta a 50 °C. Después de 7 horas, se apaga el calentamiento y se deja agitar la mezcla durante la noche. Luego se agrega peróxido de hidrógeno 30 % (5 ml) y la mezcla se lleva a pH 7 usando hielo seco, se filtra y se concentra hasta 15 ml que contienen 50 % de proteína en peso seco.

Experimento 2:

En 100 ml de agua que contenía 2,5 g de hidróxido de calcio, se añadieron 7,5 g (peso seco) de plumas de pollo tratadas con SHS de acuerdo con el método 5. La mezcla se calienta a 70 °C. Después de 7 horas, se apaga el calentamiento y se deja agitar la mezcla durante la noche. Luego se agrega peróxido de hidrógeno 30 % (5 ml) y la mezcla se lleva a pH 7 usando hielo seco, se filtra y se concentra hasta 15 ml que contienen 50 % de proteína en peso seco.

Experimento 3:

En 100 ml de agua que contenía 2,5 g de hidróxido de calcio, se añadieron 7,5 g (peso seco) de plumas de pollo tratadas con SHS de acuerdo con el método 3. La mezcla se calienta a 60 °C. Después de 7 horas, se apaga el calentamiento y se deja agitar la mezcla durante la noche. Luego se agrega peróxido de hidrógeno 30 % (5 ml) y la mezcla se lleva a pH 7 usando hielo seco, se filtra y se concentra hasta 15 ml que contienen 50 % de proteína en peso seco.

Experimento 4:

En 100 ml de agua que contenía 2,5 g de hidróxido de calcio, se añadieron 7,5 g (peso seco) de plumas de pollo tratadas con SHS de acuerdo con el método 2. La mezcla se calienta a 70 °C. Después de 7 horas, se apaga el calentamiento y se deja agitar la mezcla durante la noche. Luego se agrega peróxido de hidrógeno 30 % (5 ml) y la mezcla se lleva a pH 7 usando hielo seco, se filtra y se concentra hasta 15 ml que contienen 50 % de proteína en peso seco.

Experimento 5:

En 100 ml de agua que contenía 2,5 g de hidróxido de calcio, se añadieron 7,5 g (peso seco) de plumas de pollo tratadas con SHS de acuerdo con el método 4. La mezcla se calienta a 50 °C. Después de 7 horas, se apaga el calentamiento y se deja agitar la mezcla durante la noche. Luego se agrega peróxido de hidrógeno 30 % (5 ml) y la mezcla se lleva a pH 7 usando hielo seco, se filtra y se concentra hasta 15 ml que contienen 50 % de proteína en peso seco.

Experimento 6:

En 100 ml de agua que contenía 2,5 g de hidróxido de calcio, se añadieron 7,5 g (peso seco) de plumas de pollo tratadas con SHS de acuerdo con el método 1. La mezcla se calienta a 50 °C. Después de 7 horas, se apaga el calentamiento y se deja agitar la mezcla durante la noche. Luego se agrega peróxido de hidrógeno 30 % (5 ml) y la mezcla se lleva a pH 7 usando hielo seco, se filtra y se concentra hasta 15 ml que contienen 50 % de proteína en peso seco.

Experimento 7:

En 100 ml de agua que contenía 2,5 g de hidróxido de calcio, se añadieron 7,5 g (peso seco) de plumas de pollo tratadas con SHS de acuerdo con el método 5. La mezcla se calienta a 80 °C. Después de 7 horas, se apaga el calentamiento y se deja agitar la mezcla durante la noche. Luego se agrega peróxido de hidrógeno 30 % (5 ml) y la mezcla se lleva a pH 7 usando hielo seco, se filtra y se concentra hasta 15 ml que contienen 50 % de proteína en peso seco.

Hidrólisis enzimática de plumas de pollo tratadas con SHS

Plumas de pollo tratadas con SHS, tratadas de acuerdo con el método 5 se añadieron en 100 ml de agua y la solución se llevó hasta pH 9,2. Luego la suspensión se llevó a 50 °C y se añadió 0,5 de una solución de savinasa. El pH se mantuvo a 9,2 durante la hidrólisis. Después de 2,5, 5 y 24 horas, la hidrólisis se detuvo llevando el pH a neutro y las muestras se filtraron y se midió la cantidad de plumas en gramos. Los resultados se muestran en la Tabla 2. Como un experimento en blanco también se midieron plumas que se trataron con álcali pero que no se sometieron a condiciones con SHS.

Tabla 2

	Tratado con SHS	Alcalino
2,5 horas	5,7	9,7
5 horas	4,5	9,7
24 horas	3,2	6,6
Plumas no tratadas enzimáticamente		10,0

Ejemplo 3 - Derivación de productos de proceso

Ejemplo 3a - acilación

La paja (pre)tratada fue acetilada de acuerdo con Rodrigues Filho y otros (2005).

Los datos de producto se resumen en la Tabla 3.

Se añadió ácido acético glacial (40 ml) a la paja (pre)tratada (2 g). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente por 30 minutos. Una solución de 0,3 mL de H₂SO₄ y 17,5 ml de ácido acético glacial se añadió a la mezcla, después de lo cual se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente. La mezcla se filtró y la paja se retornó al matraz inicial. Al filtrado se añadieron 40 ml de anhídrido acético. La solución ácida se mezcló y se añadió a la paja. La mezcla se agitó durante 30 minutos y se dejó reposar durante 1, 5 y 21 horas. Se añadió agua (400 ml) y la solución se desaló usando un filtro de membrana (MWCO 3500). Finalmente, la solución se liofilizó y se analizó el producto. El grado de sustitución se determinó mediante el pretratamiento de una muestra disolviéndola en agua para ácido libre y en NaOH 0,5 M para análisis de ácido total. La muestra se analizó usando HPLC (columna Aminex HPX-87H 300 mm x 7,8 mm, eluyente ácido sulfúrico 0,01 M y detección de IR).

Tabla 3 Paja acetilada (grado de sustitución - DS - por unidad de anhidroglucosa)

Paja	1 hora	5 horas	21 horas
Original	0,3	0,6	2,1
Pretratado con 2 % de H ₂ SO ₄	1,4	1,6	2,2
Pretratado con 2 % de H ₂ SO ₄ y SHS	1,8	1,8	2,2

Ejemplo 3b - carboximetilación

a. primera etapa: pre-secado

Paja secada a 90 °C durante 12 h

b. segunda etapa; pretratamiento con ácido sulfúrico

A 10 litros de (2 % (p/p) o pH 2), se aplican 900 g (sólido seco) de paja pre-secada durante 3 horas a 60 °C. Posteriormente, la paja se seca hasta un contenido sólido seco de aproximadamente 30 %.

c. tercera etapa; SHS

Se aplica una cierta cantidad de paja pretratada con ácido sulfúrico en condiciones de vapor sobrecalentado durante un cierto tiempo y temperatura (Tabla 4). La materia sólida es aproximadamente 20-25 % después de SHS

Tabla 4

Concentración	Flujo de vapor	P (atm)	Tiempo (min)	Temp.
2 %	180 kg/ h	6	3,5	160 °C
pH2	180 kg/ h	6 (atm)	3,5	160 °C

Ejemplo 3b-2. Carboximetilación: tratamiento de impacto con ácido sulfúrico

Se prepara una solución de 140 g de isopropanol, 15,4 g de agua y 7,8 g de NaOH (50 %). A esto, se le añaden 32,5 g de paja pretratada con ácido sulfúrico. Luego se añaden 5,6 g de ácido acético monoclorico. La mezcla se agita durante 1 hora a 70C. La reacción finaliza mediante la adición de ácido cítrico/etanol hasta que se alcanza un pH de aproximadamente 7.

Luego la mezcla se centrifuga. Al residuo se agrega agua desmineralizada hasta un volumen de 140 ml que se agrega a 420 ml de etanol (100 %). La mezcla se filtra sobre un embudo Buchner y se lava con 100 ml de agua. Después, el filtrado se seca a 60 °C en un horno hasta que el contenido de humedad esté entre 10-20 %.

Se determinó la capacidad de hinchamiento.

Ejemplo 3b-3. Carboximetilación: SHS impacto + agua

Se prepara una solución de 140 g de isopropanol, 15,4 g de agua y 7,8 g de NaOH (50 %). A esto, se le añaden 32,5 g de paja pretratada con SHS (agua). Luego se añaden 5,6 g de ácido acético monoclorico. La mezcla se agita durante 1 hora a 70 °C. La reacción finaliza mediante la adición de ácido cítrico/etanol hasta que se alcanza un pH de aproximadamente 7.

Luego la mezcla se centrifuga. Al residuo se agrega agua desmineralizada hasta un volumen de 140 ml que se agrega a 420 ml de etanol (100 %). La mezcla se filtra sobre un embudo Buchner y se lava con 100 ml de agua. Posteriormente, el filtrado se seca a 60 °C en un horno hasta que el contenido de humedad entre 10-20 %.

Se determinó la capacidad de hinchamiento.

Ejemplo 3b-4. Carboximetilación: tratamiento de impacto con ácido sulfúrico y SHS

Se prepara una solución de 140 g de isopropanol, 15,4 g de agua y 7,8 g de NaOH (50 %). A esto, se le añaden 32,5 g de ácido sulfúrico/paja pretratada con SHS. Luego se añaden 5,6 g de ácido acético monoclorico. La mezcla se agita durante 1 hora a 70C. La reacción finaliza mediante la adición de ácido cítrico/etanol hasta que se alcanza un pH de aproximadamente 7.

Luego la mezcla se centrifuga. Al residuo, se agrega agua desmineralizada hasta un volumen de 140 ml que se agrega a 420 ml de etanol (100 %). La mezcla se filtra sobre un embudo Buchner y se lava con 100 ml de agua. Posteriormente, el filtrado se seca a 60 °C en un horno hasta un contenido de humedad entre 10-20 %.

Se determinó la capacidad de hinchamiento.

Ejemplo 3b-5. Carboximetilación: influencia del grado de sustitución

Se prepara una solución de 140 g de isopropanol, 15,4 g de agua y 4 g de NaOH (50 %). A esto, se le añaden 21 g de ácido sulfúrico/paja pretratada con SHS. Luego se añaden 5,7 o 2,88 o 1,44 g de ácido acético monoclorico. La mezcla se agita durante 1 hora a 70C. La reacción finaliza mediante la adición de ácido cítrico/etanol hasta que se alcanza un pH de aproximadamente 7.

Luego la mezcla se centrifuga. Al residuo, se agrega agua desmineralizada hasta un volumen de 140 ml que se agrega a 420 ml de etanol (100 %). La mezcla se filtra sobre un embudo Buchner y se lava con 100 ml de agua. Después, el filtrado se seca a 60 °C en un horno hasta un contenido de humedad entre 10-20 %.

Se determinó la capacidad de hinchamiento.

Tabla 5: Resultado de los experimentos 3b-1 a 3b-5

Muestra	H ₂ SO ₄	SHS	Capacidad de hinchamiento ml/g				
032	0	3,5 min	33				
038-2	pH2		26				
038-3	pH2	3,5 min	34				
021	2 %	-	10				
022	2 %	3,5 min	40				
024	2 %	3,5 min	34				
Número de la muestra	H ₂ SO ₄	SHS	T de Reacción	MCA.Na	Tiempo de reacción	Capacidad de hinchamiento	
	%		70 °C	g	70 °C	ml/g	hinchazón en la carga
036	2	3,5 min	1 hora	5,76	20 h	50	6,6
037-1	2	3,5 min	1 hora	2,88	20 h	59	7,4

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método para procesar material de biomasa que comprende lignocelulosa derivada de plantas, que comprende las etapas de:
 - a. pretratar dicho material de biomasa con una solución acuosa de ácido o base;
 - b. posteriormente, pasar vapor sobrecalentado a través de dicho material de biomasa conduciéndolo a través de una cámara que contiene el material de biomasa, en donde el vapor sobrecalentado se aplica hasta que el material de biomasa se calienta a la temperatura de condensación del vapor a la presión dada y luego continúa durante 10 minutos, y,

en donde la actividad del agua del vapor sobrecalentado (SHS) usado como medio de procesamiento en la etapa b) es la presión absoluta real del SHS dividida por la presión que tendría el vapor saturado a esa temperatura real del SHS, como se determina en la descripción, se controla mediante la temperatura y la presión del vapor sobrecalentado para que sea inferior a 1.
- 20 2. Método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el ácido es ácido sulfúrico (H₂SO₄) o la base se elige del grupo que consiste en hidróxido de calcio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio, hidróxido de amonio o en donde el ácido o la base es cualquier ácido o base formado *in situ*.
- 25 3. Método de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el ácido se proporciona en una solución de 0,1 % a 4,0 %.
4. Método de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la base se mezcla con biomasa en una relación de 0,02 a 0,2 gramos de base por gramo de materia seca de biomasa.
- 30 5. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la etapa a) se realiza a una temperatura de aproximadamente 20 a aproximadamente 80 °C.
6. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el vapor sobrecalentado se aplica bajo una presión entre 1 y 10 bar.
7. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la temperatura del vapor sobrecalentado está entre 150 y 220 °C.
- 35 8. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el proceso comprende una etapa adicional c) de hidrólisis enzimática adicional (actividad exo y endo), acilación, oxidación, eterificación, carboximetilación o esterificación de dicho material después del tratamiento con SHS.
- 40 9. Método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la etapa c) comprende acilación o carboximetilación.
10. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el material es material vegetal leñoso, que incluye hojas, ramas, corteza, hierbas, heno, cañas, melasa, paja, astillas de madera, aserrín, bagazo, rastrojos de maíz, mazorcas de maíz, salvado de trigo, torta de prensa de remolacha azucarera, cáscaras de arroz, palma, coco, fibras de algodón y/o turba, esfagno, torta de filtro de plantas de aguas residuales.
- 45 11. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el paso se acomoda mediante una estructura porosa de la biomasa o un relleno muy suelto del biomaterial.

Figura 1

**Perfiles de temperatura a pequeña escala
5 bar, 160 °C**

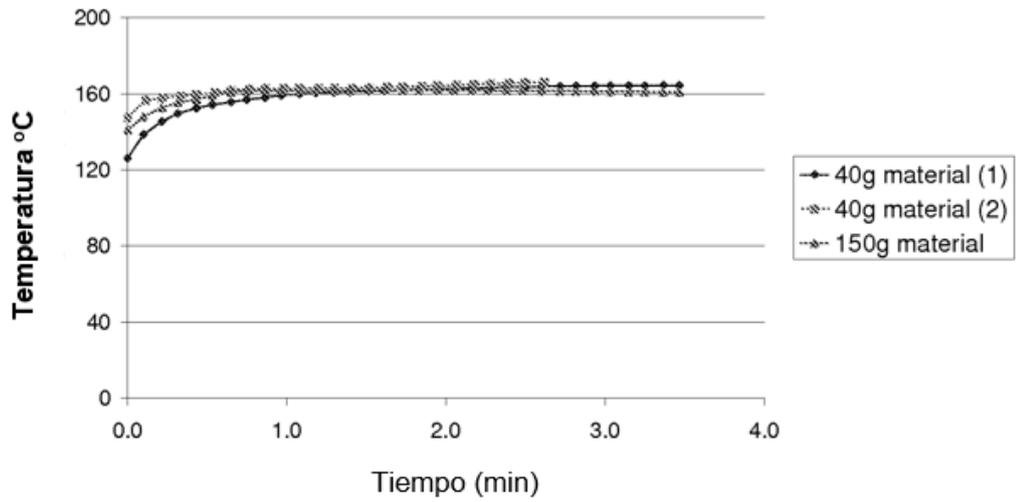


Figura 2

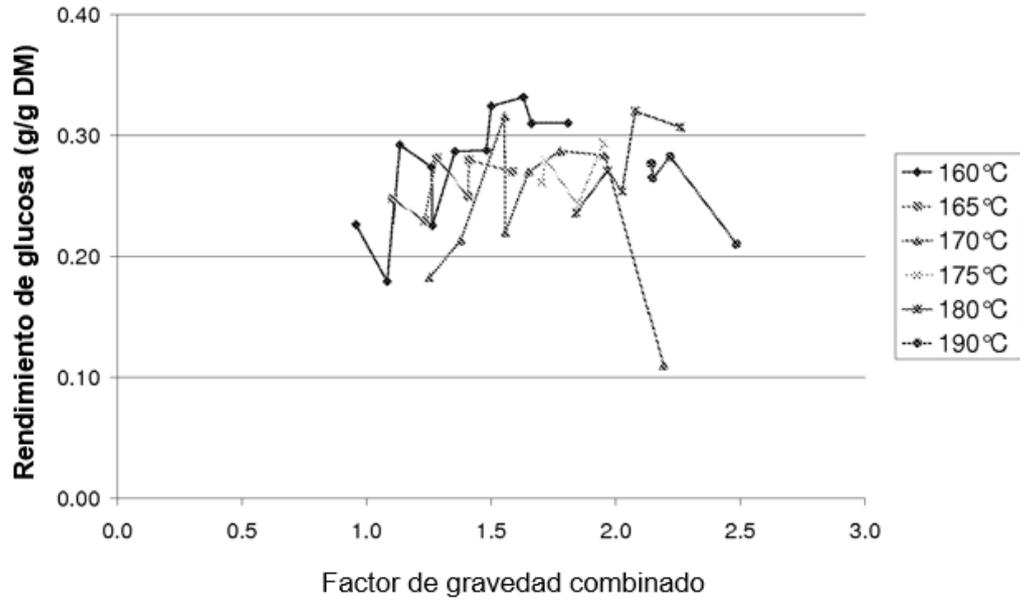


Figura 3

