

PCT
Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-050980-00000-0000

Fecha: 2011-04-26 16:40:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 64

SOLICITUD



PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

11-50980

54. TÍTULO: "PRODUCCIÓN DE LIGNINA PURA A PARTIR DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL C12P 7/22

71. SOLICITANTE: MASCOMA CORPORATION

DOMICILIO: LEBANON, ESTADO DE NEW HAMPSHIRE, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C.

198 2011

(FORMA P 10).

7.1.1.1
17-05-2011
No 54

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-050980- 00000-0000

Fecha: 2011-04-26 16:40:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Follos: 64

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

①

SOLICITUD DE:

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capítulo I.

☐ Capítulo II.

②

SOLICITANTE (71)

Nombre: **MASCOMA CORPORATION.**

Dirección: 67 Etna Road, Suite 300,
Lebanon, NH 03766, Estados Unidos de
América.

Nacionalidad o Domicilio: Lebanon, Estado
de New Hampshire, Estados Unidos de
América.

Lugar de Constitución:

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número _____

③

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º,
Bogotá, Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Cual _____

Número 39.690.713 TP 53.215

④

INVENTOR(ES) (72)

Nombre: WENGER, Kevin, S.; HOGSETT, David, A.; LADISCH, Michael y
BARDSLEY, John.

Dirección: 2 Bridgeman Road, Hanover, NH 03755; 6 Winter Hill Road,
Graham, NH 03753; 1024 Kingswood Road, West, West Lafayette, IN 47906;
40 Schoolhouse Road, Newport, NH 03773.

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América.

⑤ PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2009/061040

Fecha: 16/10/09

Publicación Internacional No. WO 2010/045576 A3

Fecha: 22/04/10

⑥

Título (54)

**"PRODUCCIÓN DE LIGNINA PURA A PARTIR DE BIOMASA
LIGNOCELULÓSICA"**

⑦

Clasificación Internacional (51) C12P 7/22

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

US

17/10/08

61/136,956

⑨

Comprobante de Pago No. 11-0033614

Fecha: Abril 12 de 2011

mfr

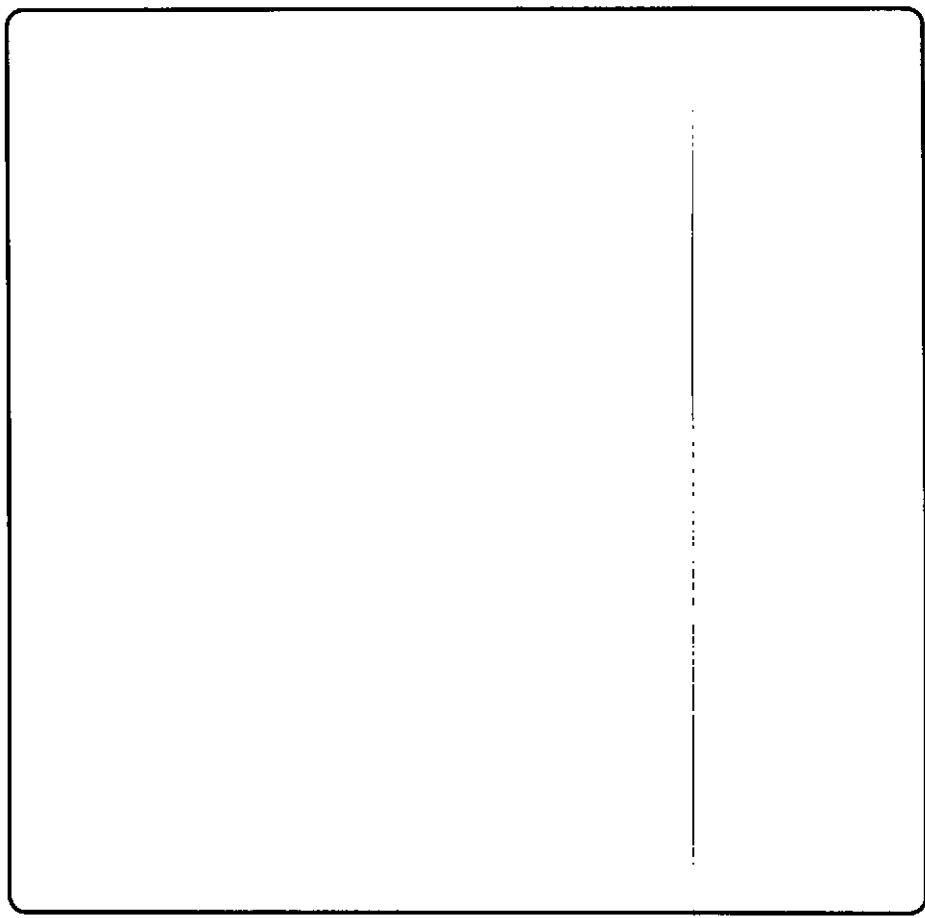
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Documento de Representación Legal.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ Traducción del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: reporte de búsqueda internacional, publicación y opinión escrita de la autoridad de búsqueda internacional.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA:

C.C. 39.690.713

T.P. 53.215

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 11 - 0033614
Bogotá D.C., Abril 12 de 2011 - 07:05:16		

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A.

NI 830.022.145

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	430541683	11/04/2011	26.323.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	571.000.00	571.000.00
			\$571.000.00

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-050980- -00000-0000

Fecha: 2011-04-26 16:40:15 Dep. 2020 DIR NUEVASCR
 Tra. 11 PATENTE IYII Eva: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 64

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: Info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Abril 12 de 2011 - 07:05:23

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACION SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT			
(21) No. de solicitud:		(51) Int Cl: C12P 7/22	
(22) Fecha de solicitud: 26-04-11		(71) Solicitante(s): MASCOMA, CORPORATION.	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad 61/136,956	(32) Fecha 17-10-08	(33) Pais US
		(72) Inventor(es): WENGER, Kevin, S.; HOGSETT, David, A.; LADISCH, Michael y BARDSLEY, John.	
		(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 17-05-11		(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 22-04-10	
Fecha de presentación de la solicitud: 16-10-09		No. publicación: WO 2010/045576 A3	
No. de solicitud: PCT/US2009/061040			
(54) Titulo: "PRODUCCIÓN DE LIGNINA PURA A PARTIR DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA"			

Resumen.-Reivindicación(es):

Sector: Proceso para preparar compuestos orgánicos que contienen oxígeno, a partir de residuos de sustratos celulósicos.

Resumen.-

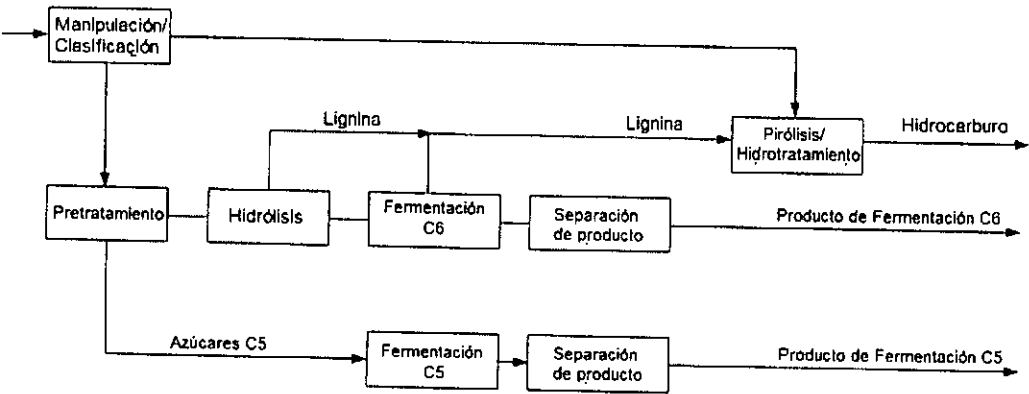


FIG. 1

La presente invención está dirigida a un proceso para producir lignina sustancialmente pura a partir de biomasa lignocelulósica, que comprende: pretratar una materia prima lignocelulósica para producir una mezcla lignina-carbohidrato reactiva; hacer reaccionar biológicamente los carbohidratos en la mezcla, separar los sólidos remanentes de los productos de fermentación líquidos, y secar los sólidos resultantes para producir un producto de lignina sustancialmente puro. Opcionalmente, el producto de lignina puede ser lavado y sometido a un segundo paso de hidrólisis. Opcionalmente, el producto de lignina puede ser procesado adicionalmente mediante hidrotratamiento y/o pirólisis con el fin de producir productos deseables tales como aditivos para combustible.

(21) No. De solicitud:

(22) Fecha de solicitud: 26-04-11

(51) Clasificación Internacional: C12P 7/22

(71) Solicitante(s): **MASCOMA CORPORATION.**

(72) Inventor(es): WENGER, Kevin, S.; HOGSETT, David, A.; LADISCH, Michael y BARDSLEY, John..

(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

(30) Prioridad

(31)

No. Prioridad

(32)

Fecha

(33)

País

61/136,956

17-10-08

US

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 17-05-11

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha de presentación de la solicitud: 16-10-09

No. de solicitud: **PCT/US2009/061040**

(87) Publicación internacional

Fecha: **22-04-10**

No. publicación: **WO 2010/045576 A3**

(54) Título: **"PRODUCCIÓN DE LIGNINA PURA A PARTIR DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA"**

(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 26-04-11	
(51) Clasificación Internacional: C12P 7/22	
(71) Solicitante(s): MASCOMA CORPORATION	
(72) Inventor(es): WENGER, Kevin, S.; HOGSETT, David, A.; LADISCH, Michael y BARDSLEY, John.	
(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad (32) Fecha (33) País 61/136,956 17-10-08 US
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 17-05-11	(87) Publicación internacional:
(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT Fecha de presentación de la solicitud: 16-10-09 No. de solicitud: PCT/US2009/061040	Fecha: 22-04-10 No. Publicación: WO 2010/045576 A3

FIGURA CARACTERISTICA
6 x 6 cm

(54) Título: "PRODUCCIÓN DE LIGNINA PURA A PARTIR DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA"

(57) Resumen.-Reivindicación (es):

Sector: Proceso para preparar compuestos orgánicos que contienen oxígeno, a partir de residuos de sustratos celulósicos.

Resumen.-

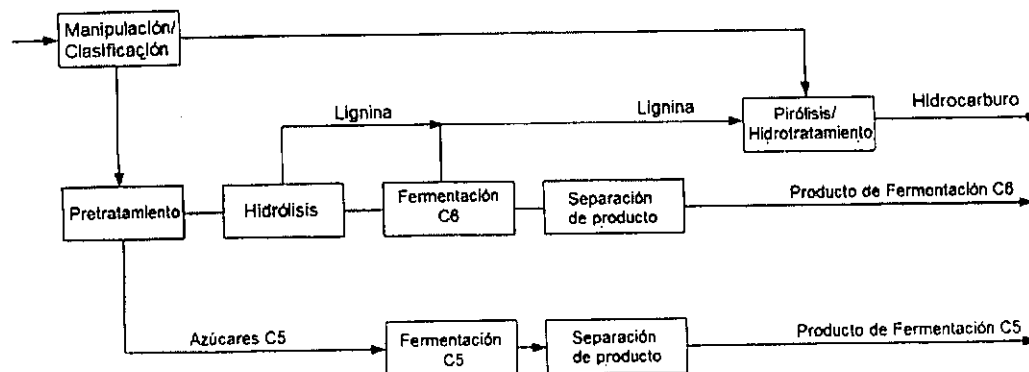


FIG. 1

La presente invención está dirigida a un proceso para producir lignina sustancialmente pura a partir de biomasa lignocelulósica, que comprende: pretratar una materia prima lignocelulósica para producir una mezcla lignina-carbohidrato reactiva; hacer reaccionar biológicamente los carbohidratos en la mezcla, separar los sólidos remanentes de los productos de fermentación líquidos, y secar los sólidos resultantes para producir un producto de lignina sustancialmente puro. Opcionalmente, el producto de lignina puede ser lavado y sometido a un segundo paso de hidrólisis. Opcionalmente, el producto de lignina puede ser procesado adicionalmente mediante hidrotratamiento y/o pirólisis con el fin de producir productos deseables tales como aditivos para combustible.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 2608019PC01	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2009/061040	International filing date (day/month/year) 16/10/2009	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 17/10/2008
Applicant MASCOMA CORPORATION		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 1
☒ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2009/061040

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C12P7/10 C12P7/22
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/009463 A2 (HOLM CHRISTENSEN BIOSYSTEMER A [DK]; HOLM CHRISTENSEN BOERGE [DK]; HOL) 25 January 2007 (2007-01-25)	1-10, 12-16, 20-28, 41, 45
Y	page 7, line 11 - page 19, line 5; figure 1	11, 17-19, 29-40, 42-44
X	US 5 047 332 A (CHAHAL DEVINDER S [CA]) 10 September 1991 (1991-09-10) cited in the application	45
Y	column 3, line 25 - column 4, line 6	18
A	column 7, line 9 - line 24 column 10, line 40 - column 11, line 35 ----- -/--	1-9, 12-16, 41



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 May 2010

Date of mailing of the international search report

08/06/2010

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

De Kok, Ad

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2009/061040

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 846 787 A (LADISCH MICHAEL R [US] ET AL) 8 December 1998 (1998-12-08) cited in the application	45
Y	column 6, line 11 - column 12, line 34	11
A		1-10, 12-16
X	US 5 735 916 A (LUCAS JAMES LEWIS [US] ET AL) 7 April 1998 (1998-04-07) cited in the application	45
Y	column 2, line 39 - line 44 column 4, line 61 - line 65	36-38, 43
X	US 5 730 837 A (BLACK STUART K [US] ET AL) 24 March 1998 (1998-03-24) cited in the application	45
Y	column 3, line 1 - line 35; examples 1-4	29-35
A		1, 22, 24-28
Y	US 7 297 236 B1 (VANDER GRIEND DENNIS LEE [US]) 20 November 2007 (2007-11-20) cited in the application	19
	column 2, line 31 - column 4, line 35	
Y	WO 2008/027699 A2 (UOP LLC [US]; MARKER TERRY L [US]; PETRI JOHN A [US]) 6 March 2008 (2008-03-06) cited in the application paragraph [0006]	39, 40
Y	FUJITA Y ET AL: "Synergistic saccharification, and direct fermentation to ethanol, of amorphous cellulose by use of an engineered yeast strain codisplaying three types of cellulolytic enzyme" APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US LNKD- DOI:10.1128/AEM.70.2.1207-1212.2004, vol. 70, no. 2, 1 February 2004 (2004-02-01), pages 1207-1212, XP002368082 ISSN: 0099-2240 abstract	17
Y	US 4 292 406 A (LJUNGDAHL LARS G ET AL) 29 September 1981 (1981-09-29) the whole document	42, 44

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2009/061040

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007009463	A2	25-01-2007	AU 2006272198 A1	25-01-2007
			CA 2615844 A1	25-01-2007
			CN 101268121 A	17-09-2008
			EP 1910448 A2	16-04-2008
			EP 2172568 A1	07-04-2010
			US 2010041119 A1	18-02-2010
			ZA 200801439 A	26-11-2008
US 5047332	A	10-09-1991	CA 1327537 C	08-03-1994
			IN 165819 A1	20-01-1990
US 5846787	A	08-12-1998	NONE	
US 5735916	A	07-04-1998	NONE	
US 5730837	A	24-03-1998	NONE	
US 7297236	B1	20-11-2007	US 7572353 B1	11-08-2009
WO 2008027699	A2	06-03-2008	US 2008053870 A1	06-03-2008
US 4292406	A	29-09-1981	AR 223514 A1	31-08-1981
			AU 5633080 A	19-03-1981
			BE 882162 A1	01-07-1980
			BR 8001309 A	31-03-1981
			CA 1142464 A1	08-03-1983
			DE 2944042 A1	16-04-1981
			DK 160880 A	12-03-1981
			ES 8103168 A1	16-05-1981
			FR 2464992 A1	20-03-1981
			GB 2075546 A	18-11-1981
			IT 1130942 B	18-06-1986
			JP 56042582 A	20-04-1981
			LU 82240 A1	06-06-1980
			NL 8000338 A	13-03-1981
			SE 7909324 A	12-03-1981
			ZA 7907047 A	31-12-1980

- (51) International Patent Classification:
C12P 7/22 (2006.01) C12P 7/10 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/US2009/061040
- (22) International Filing Date:
16 October 2009 (16.10.2009)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
61/136,956 17 October 2008 (17.10.2008) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): MAS-COMA CORPORATION [US/US]; 67 Etna Road, Suite 300, Lebanon, NH 03766 (US).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): WENGER, Kevin, S. [US/US]; 2 Bridgeman Road, Hanover, NH 03755 (US). HOGSETT, David, A. [US/US]; 6 Winter Hill Road, Grantham, NH 03753 (US). LADISCH, Michael [US/US]; 1024 Kingswood Road, West, West Lafayette, IN 47906 (US). BARDSLEY, John [US/US]; 40 Schoolhouse Road, Newport, NH 03773 (US).
- (74) Agents: COVERT, John, M. et al.; Sieme, Kessler, Goldstein & Fox P.L.L.C., 1100 New York Avenue, N.W., Washington, DC 20005 (US).
- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))
- (88) Date of publication of the international search report:
22 July 2010

(54) Title: PRODUCTION OF PURE LIGNIN FROM LIGNOCELLULOSIC BIOMASS

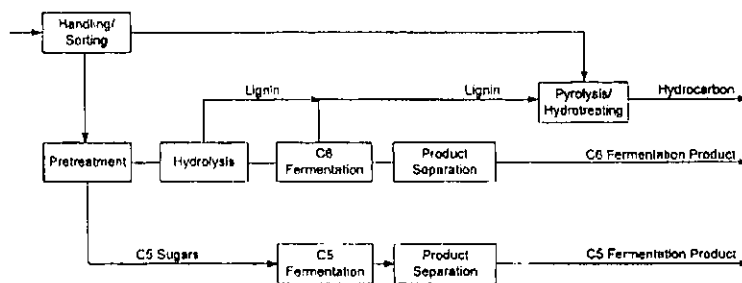


FIG. 1

(57) Abstract: The present invention is directed to a process of producing substantially pure lignin from lignocellulosic biomass, which comprises: pre-treating a lignocellulosic feedstock to produce a reactive lignin-carbohydrate mixture; biologically-reacting the carbohydrates in the mixture, separating remaining solids from the liquid fermentation products, and drying the resulting solids to yield a substantially pure lignin product. Optionally, the lignin product may be washed and subjected to a second hydrolysis step. Optionally, the lignin product may be further processed by hydrotreating and/or pyrolysis in order to yield desirable products such as fuel additives.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2009/061040

International filing date (day/month/year)
16.10.2009

Priority date (day/month/year)
17.10.2008

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C12P7/10 C12P7/22

Applicant
MASCOMA CORPORATION

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
Gitschiner Str. 103
D-10958 Berlin
Tel. +49 30 25901 - 0
Fax: +49 30 25901 - 840

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

De Kok, Ad

Telephone No. +49 30 25901-314



WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US2009/061040

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
- ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
- a. (means)
- ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
- b. (time)
- ☐ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>11, 17-19, 29-40, 42-44</u>
	No: Claims	<u>1-10, 12-16, 20-28, 41, 45</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-45</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-45</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. **Reference** is made to the following documents:

- D1 WO 2007/009463 A2 (HOLM CHRISTENSEN BIOSYSTEMER A [DK]; HOLM CHRISTENSEN BOERGE [DK]; HOL) 25 January 2007 (2007-01-25)
- D2 US 5 047 332 A (CHAHAL DEVINDER S [CA]) 10 September 1991 (1991-09-10)
- D3 US 5 846 787 A (LADISCH MICHAEL R [US] ET AL) 8 December 1998 (1998-12-08)
- D4 US 5 735 916 A (LUCAS JAMES LEWIS [US] ET AL) 7 April 1998 (1998-04-07)
- D5 US 5 730 837 A (BLACK STUART K [US] ET AL) 24 March 1998 (1998-03-24)
- D6 US 7 297 236 B1 (VANDER GRIEND DENNIS LEE [US]) 20 November 2007 (2007-11-20)
- D7 WO 2008/027699 A2 (UOP LLC [US]; MARKER TERRY L [US]; PETRI JOHN A [US]) 6 March 2008 (2008-03-06)
- D8 FUJITA Y ET AL: "Synergistic saccharification, and direct fermentation to ethanol, of amorphous cellulose by use of an engineered yeast strain codisplaying three types of cellulolytic enzyme" APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US, vol. 70, no. 2, 1 February 2004 (2004-02-01) , pages 1207-1212,
- D9 US 4 292 406 A (LJUNGDAHL LARS G ET AL) 29 September 1981 (1981-09-29)

2. **Novelty and inventive step** (Articles 33(2) and (3) PCT):

2.1 Document D1 discloses (see pages 7-19) a process for the hydrothermal pretreatment of lignocellulose without addition of acids or bases, followed by liquid solid separation. The solid fraction (cellulose and lignin) is treated with enzymes (SSF) and thereafter the lignin is isolated by filtration (see page 18, lines 10-18; see also figure 1). D1 discloses also that with hydrothermal treatment the lignin need not be removed before fermentation since it is present in form of microdroplets which do not inhibit fermentation enzymes (see page 10, lines 21-27).

Thus D1 takes away the novelty of **claims 1-10, 12-16, 20-28, 41 and 45**.

2.2 Documents D2-D5 all disclose (see passages cited in the search report) processes for the preparation of lignin from lignocellulosic materials. Since a known product is not made novel by a (tentatively) novel process, D2-D5 also take away the novelty of **claim 45**.

2.3 Dependent **claims 11, 17-19, 29-40 and 42-44** do not contain any features which, in combination with the features of claim 1, meet the requirements of the PCT in respect of inventive step, since these features are described in documents D2 (claim 18), D3 (claim 11), D4 (claims 36-38, 43), D5 (claims 29-35), D6 (claim 19), D7 (claims 39,40), D8 (claim 17) and D9 (claims 42,44) (see passages cited in the search report) as providing the same advantages as in the present application.

Re Item VIII

Certain observations on the international application

Clarity, support and disclosure (Articles 5 and 6 PCT):

1. **Claim 1** does not meet the requirements of Article 6 PCT in that the matter for which protection is sought is not clearly defined. The claim attempts to define the subject-matter in terms of the result to be achieved (i.e. "...biological conversion to yield...."), which merely amounts to a statement of the underlying problem, without providing the technical features necessary for achieving this result. Thus, claim 1 does not meet the requirement following from Article 6 PCT taken in combination with Rule 6.3(b) PCT that any independent claim must contain all the technical features essential to the definition of the invention.

The same applies mutatis mutandis to **claim 12**.

2. The term "substantially" used in **claims 1, 39 and 40** is vague and unclear and leaves the reader in doubt as to the meaning of the technical feature to which it refers, thereby rendering the definition of the subject-matter of said claim unclear, Article 6 PCT.

3. **Claims 26 to 38** also attempt to define the subject-matter in terms of the result to be achieved (i.e. "...process...wherein said substantially pure lignin is...."), without providing the technical features necessary for achieving this result.

In addition, no workable example has been given for the subject-matter of **claims 29, 31, 32 and 34-38**. Thus said claims lack disclosure and support.

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information

For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.

Amending claims under Art. 19 PCT

Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.

Filing a demand for international preliminary examination

In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/ WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT).

If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT).

Filing informal comments

After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box.

End of the international phase

At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPER (international preliminary examination report).

Relevant PCT Rules and more information

Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, OJ 11/2003, OJ 12/2003

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

Veuillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.

XS CPRIENFRDE

PRODUCCIÓN DE LIGNINA PURA A PARTIR DE BIOMASA
LIGNOCELULÓSICA
RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

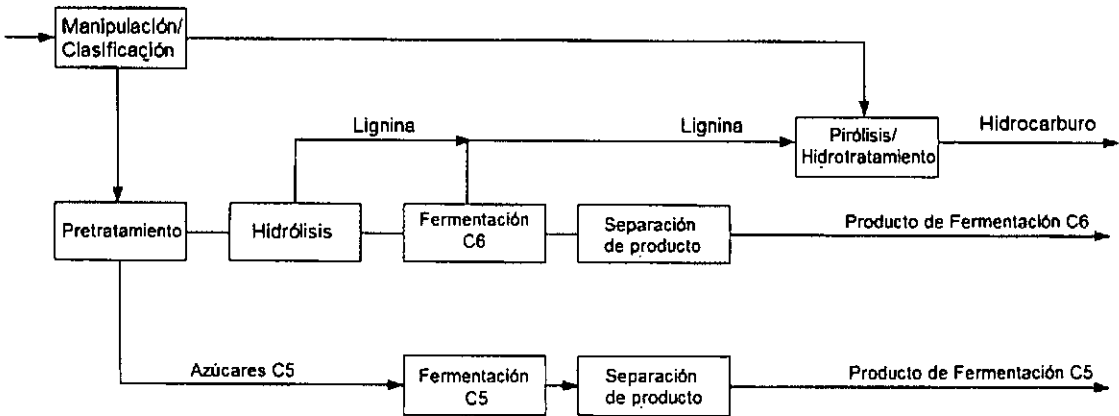


FIG. 1

La presente invención está dirigida a un proceso para producir lignina sustancialmente pura a partir de biomasa lignocelulósica, que comprende: pretratar una materia prima lignocelulósica para producir una mezcla lignina-carbohidrato reactiva; hacer reaccionar biológicamente los carbohidratos en la mezcla, separar los sólidos remanentes de los productos de fermentación líquidos, y secar los sólidos resultantes para producir un producto de lignina sustancialmente puro. Opcionalmente, el producto de lignina puede ser lavado y sometido a un segundo paso de hidrólisis. Opcionalmente, el producto de lignina puede ser procesado adicionalmente mediante hidrotratamiento y/o pirólisis con el fin de producir productos deseables tales como aditivos para combustible.

Sector: Proceso para preparar compuestos orgánicos que contienen oxígeno, a partir de residuos de sustratos celulósicos.

PRODUCCIÓN DE LIGNINA PURA A PARTIR DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la Invención

[0001] La presente invención está dirigida a procesos para producir lignina sustancialmente pura a partir de biomasa lignocelulósica. En algunos aspectos, la lignina producida mediante los métodos de la invención es libre de químicos fuertes. La lignina producida de esta manera es útil para procesamiento adicional en aditivos para combustibles.

Técnica Previa

[0002] La biomasa de planta y los derivados de la misma son una fuente natural para la conversión biológica de energía a formas útiles para la humanidad. Entre las formas de biomasa de planta, la biomasa lignocelulósica es particularmente apropiada para aplicaciones de energía debido a su disponibilidad a gran escala, bajo costo, y producción ambientalmente benigna, en particular, mucha producción de energía y los ciclos de utilización basados en biomasa lignocelulósica tienen emisiones de gas invernadero cercanas a cero sobre una base de ciclo de vida.

[0003] La biomasa de planta puede ser clasificada en tres categorías principales: azúcar, almidón y plantas que contienen celulosa. Las plantas que contienen celulosa y los productos de desecho son las formas de biomasa más abundantes; estos materiales son referidos como biomasa lignocelulósica porque contienen celulosa (20% a 60%), hemicelulosa (10% a 40%) y lignina

(5% a 25%) mientras que la biomasa no leñosa contiene menos de aproximadamente 15-20% de lignina.

[0004] La biomasa lignocelulósica está compuesta de celulosa, hemicelulosa y lignina, con cantidades más pequeñas de proteínas, lípidos (grasas, ceras y aceites) y ceniza. Aproximadamente dos terceras partes de la masa seca de los materiales celulósicos está presente como celulosa y hemicelulosa. La lignina constituye la masa de la masa seca restante.

[0005] La lignina o lignano es un compuesto químico complejo que es derivado más comúnmente de la madera y una parte integral de las paredes celulares de las plantas. El término fue introducido en 1819 por de Candolle y se deriva de la palabra latina *lignum*, que significa madera. Es uno de los polímeros orgánicos más abundante en la Tierra, reemplazado solo por celulosa, que emplea 30% de carbono orgánico no fósil y que constituye de un cuarto a un tercio de la masa seca de la madera. El compuesto tiene varias propiedades inusuales como un biopolímero, en particular su heterogeneidad por la falta de una estructura primaria definida.

[0006] La lignina llena los espacios en la pared celular entre celulosa, hemicelulosa y componentes de pectina, especialmente en traqueidas, esclereidas y xilema. Está enlazada covalentemente a hemicelulosa y de esta forma se entrecruza con diferentes polisacáridos de planta, impartiendo resistencia mecánica a la pared celular y extendiendo la planta como un todo. Es particularmente abundante en la madera de compresión.

[0007] En el pulpeo al sulfito, la lignina es removida de la pulpa de madera como sulfonatos. Estos lignosulfonatos tienen varios usos como dispersantes en aplicaciones de cemento de alto desempeño, formulaciones de tratamiento de agua y colorantes textiles, aditivos en aplicaciones petroleras de

especialidad y químicos agrícolas, materias primas para varios químicos, tales como vanilina, DMSO, etanol, levadura de tórula, azúcar de xilitol y ácido húmico, y como un agente de supresión de polvo ambientalmente sostenible para carreteras. Sin embargo, el alto contenido de azufre de los lignosulfonatos evita el uso de lignina en otras aplicaciones, más notablemente como aditivos para combustibles, por ejemplo en gasolina o combustible.

[0008] Otras tecnologías de deslignificación usan solventes orgánicos o un tratamiento de vapor a alta presión combinado con un ácido fuerte o una base fuerte para remover la lignina de las plantas. Estas tecnologías de deslignificación están sometidas a las desventajas de grandes costos químicos, la disposición costosa de productos de desecho ambientalmente peligrosos, y la producción de productos secundarios indeseados de los pasos de deslignificación.

[0009] La Patente US No. 5,730,837 revela un método para separar lignina con base en el uso de alcohol, agua, y una cetona inmiscible en agua

[0010] La patente US No. 5,047,332 revela un método biológico para recuperar lignina usando fermentación de materiales lignocelulósicos pre-tratados con hongos celulolíticos aeróbios.

[0011] La Patente US No. 5,735,916 revela un método para recuperar lignina como parte de un proceso de conversión biológica, donde la recuperación de lignina se hace mediante solución de hidróxido cáustico.

[0012] La Patente US No. 6,172,272 revela un método para convertir lignina asilada en gasolina reformada, parcialmente oxigenada.

[0013] La presente invención está relacionada con la generación de lignina sustancialmente pura a partir de material lignocelulósico sin la necesidad de aditivos químicos fuertes o solventes orgánicos. En algunas realizaciones, la presente invención combina un pretratamiento de vapor sin el uso de químicos fuertes, con un paso de degradación celulosa biológica para producir lignina sustancialmente pura. En algunas realizaciones, la combinación particular de pretratamiento y conversión biológica produce un producto de lignina de alta pureza.

BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

[0014] La presente invención está dirigida a un proceso para producir lignina sustancialmente pura a partir de biomasa lignocelulósica, que comprende: pre-tratar una materia prima lignocelulósica para producir una mezcla lignina-carbohidrato reactiva; hacer reaccionar biológicamente los carbohidratos en la mezcla, separar los sólidos remanentes de los productos de fermentación líquidos, y secar los sólidos resultantes para producir un producto de lignina sustancialmente puro. Opcionalmente, el producto de lignina puede ser procesado adicionalmente mediante hidrotratamiento y/o pirólisis, con el fin de producir productos deseables tales como aditivos para combustibles. Los pasos de hacer reaccionar biológicamente y separar pueden ser repetidos una o más veces.

[0015] En ciertas realizaciones, la presente invención comprende además deshidratar o secar la lignina sustancialmente pura. En otras realizaciones, la presente invención comprende además tratar la lignina sustancialmente pura mediante hidrogenación o pirólisis.

[0016] En ciertas realizaciones de la presente invención, la biomasa lignocelulósica se selecciona del grupo que consiste de pasto, pasto varilla,

pasto cordón de pradera, pasto lolium, pasto falaris (canario), miscanthus, residuos de procesamiento del azúcar, bagazo de caña de azúcar, desechos agrícolas, paja de arroz, cáscaras de arroz, paja de cebada, mazorcas, paja de cereal, paja de trigo, paja de canola, paja de avena, cáscaras de avena, fibra de maíz, forraje, forraje de soya, forraje de maíz, desechos forestales, fibra de pulpa de madera reciclada, lodo de papel, aserrín, madera dura, madera blanda, y combinaciones de los mismos.

[0017] En ciertas realizaciones, la presente invención involucra un paso de pretratamiento lignocelulósico en donde el pretratamiento se selecciona del grupo que consiste de tratamiento catalítico, tratamiento ácido, tratamiento alcalino, tratamiento de solvente orgánico, tratamiento con vapor, tratamiento al calor, tratamiento a pH bajo, tratamiento a presión, tratamiento de molienda, tratamiento de explosión de vapor, tratamiento de pulpeo o tratamiento con hongos blancos de putrefacción y combinaciones de los mismos, en realizaciones adicionales, el pretratamiento es una combinación de tratamiento con vapor y tratamiento al calor.

[0018] En algunas realizaciones de la presente invención, la reacción biológica comprende hidrolizar enzimáticamente la celulosa y hemi-celulosa para formar azúcares monoméricos. En ciertas realizaciones, la reacción biológica comprende hidrolizar la celulosa y hemi-celulosa para formar azúcares monoméricos. En ciertas realizaciones de la invención, la conversión comprende hidrolizar celulosa y hemi-celulosa para formar azúcares monoméricos, y fermentar dichos azúcares monoméricos para producir etanol.

[0019] En ciertas realizaciones de la presente invención, la fermentación comprende fermentar enzimáticamente dichos azúcares monoméricos para producir etanol. En ciertas realizaciones, la hidrólisis y fermentación ocurren en

el mismo reactor y en ciertas realizaciones de la presente invención, la hidrólisis y fermentación se realizan separadamente.

[0020] En algunas realizaciones, la lignina sustancialmente pura es producida después que el componente carbohidrato del material lignocelulósico es convertido a azúcares monoméricos y los azúcares monoméricos son convertidos biológicamente a productos que son luego removidos, dejando lignina sustancialmente pura.

[0021] En algunas realizaciones, después de la fermentación, la lignina sustancialmente pura es opcionalmente tratada con agua líquida a alta temperatura, y/o tratada opcionalmente con celulasas adicionales para mejorar la pureza de la lignina.

[0022] En ciertas realizaciones, la lignina sustancialmente pura es tratada adicionalmente, por ejemplo, mediante pirólisis y/o hidrogenación.

[0023] Otra realización de la invención está dirigida a la lignina producida mediante los procesos mencionados anteriormente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS/FIGURAS

[0024] La FIG. 1 describe un proceso para hidrotratar lignina derivada del pretratamiento e hidrólisis de biomasa.

[0025] La FIG. 2 describe un proceso para convertir biomasa a productos fermentables con una unidad de pirólisis/hidrotratamiento.

[0026] La FIG. 3 describe un proceso para pirolizar lignina derivada del pretratamiento e hidrólisis de biomasa.

[0027] La FIG. 4 describe un proceso para pirolizar lignina derivada del pretratamiento e hidrólisis de biomasa, seguido por hidrotratamiento posterior de la fracción oleosa resultante.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0028] En algunas realizaciones, la presente invención está dirigida a un proceso para producir lignina sustancialmente pura a partir de biomasa lignocelulósica, que incluye pretratamiento con vapor de un material lignocelulósico a un pH entre aproximadamente 5 y aproximadamente 8; convertir biológicamente el material lignocelulósico pretratado para dar uno o más productos solubles y lignina; y, separar el uno o más productos solubles de dicha lignina para dar lignina sustancialmente pura. En algunas realizaciones, los pasos de convertir biológicamente y separar pueden ser repetidos una o más veces para mejorar más la pureza.

[0029] La lignina sustancialmente pura producida mediante la presente invención se refiere a lignina que es al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, o al menos 90%, o al menos 95% lignina pura. Las impurezas trazas tales como ceniza, carbohidrato y azufre son minimizadas y comprenden solamente una minoría de la lignina sustancialmente pura. En algunas realizaciones, los carbohidratos comprenden menos de 30% menos de 20%, menos de 11%, menos de 10%, menos de 7%, menos de 6%, menos de 5%, menos de 4%, menos de 3%, menos de 2%, o menos de 1% del producto final de lignina sustancialmente pura. En algunas realizaciones, la ceniza comprende menos de 2%, menos de 1%, menos de 0.4%, o menos de 0.2%, o menos de 0.1%, o menos de 0.05% del producto final de lignina sustancialmente pura. En algunas realizaciones, el contenido de azufre en el producto de lignina sustancialmente pura es de menos de 0.5%, menos de

0.25%, menos de 0.2%, menos de 0.1%, y menos de 0.05% de azufre. En ciertas realizaciones, la lignina contiene menos de 0.5% de ceniza, menos de 5% de carbohidrato, y menos de 0.1% de azufre.

[0030] Los términos "hemicelulosa," "porciones hemicelulósicas" y "fracciones hemicelulósicas" significan elementos diferentes a lignina, diferentes a celulosa del material lignocelulósico, tales como, pero sin limitarse a hemicelulosa (que comprende xiloglucano, xilán, glucuronoxilán, arabinoxilán, manano, glucomanano, y galactoglucomanano, *inter alia*), pectinas (p.e., homogalacturonanos, ramnogalacturonano I y II, y xilogalacturonano), y proteoglicanos (p.e., arabinogalactano-proteína, extensina, y proteínas ricas en prolina).

[0031] En ciertas realizaciones, la biomasa lignocelulósica puede incluir, pero no se limita a, biomasa leñosa, tal como fibra de pulpa de madera reciclada, aserrín, madera dura, madera blanda, y combinaciones de las mismas; pastos, tales como pasto varilla, pasto cordón de pradera, pasto lolium, pasto falaris (canario), miscanthus, o una combinación de los mismos; los residuos del procesamiento del azúcar, tales como, pero sin limitarse a bagazo de caña de azúcar, desechos agrícolas, tales como, pero sin limitarse a paja de arroz, cáscaras de arroz, paja de cebada, mazorca, paja de cereal, paja de trigo, paja de canola, paja de avena, cáscaras de avena, y fibra de maíz; forraje, tal como, pero sin limitarse a, forraje de soya, forraje de maíz; y desechos forestales, tales como, pero sin limitarse a, fibra de pulpa de madera reciclada, aserrín, madera dura (p.e., álamo, roble, arce, abedul), madera blanda, o cualquier combinación de los mismos.

[0032] El lodo de papel es también una materia prima viable para la producción de lignina. El lodo de papel es residuo sólido que surge del pulpeo y preparación del papel, y es típicamente removido del agua residual del proceso

en un clarificador primario. El rango de tamaño del material de sustrato varia ampliamente y depende del tipo de material de sustrato usado así como de los requerimientos y necesidades de un proceso dado. En ciertas realizaciones de la invención, la biomasa lignocelulósica se puede preparar de forma que permita la fácil manipulación en transportadores, tolvas y similares. En el caso de la madera, son adecuadas las astillas obtenidas de trituradoras de madera comerciales; en el caso de paja, algunas veces es deseable cortar los tallos en piezas uniformes de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 pulgadas de longitud. Dependiendo del grado de pretratamiento previsto, el tamaño de las partículas del sustrato antes del pretratamiento puede variar de menos de un milímetro a pulgadas de longitud.

[0033] Las moléculas de celulosa son lineales y no ramificadas y tienen una fuerte tendencia a formar enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares. Los paquetes de moléculas de celulosa son así agregadas juntas para formar microfibrilos en los cuales regiones altamente ordenadas (cristalinas) se alternan con regiones menos ordenadas (amorfas). Los microfibrilos hacen fibrilos y finalmente fibras de celulosa. Como una consecuencia de su estructura fibrosa y enlaces de hidrógeno fuertes, la celulosa tiene una resistencia a la tensión muy alta y es insoluble en la mayoría de los solventes.

[0034] La biomasa lignocelulósica debe, por lo tanto, someterse a pretratamiento para mejorar la susceptibilidad de las cadenas de carbohidrato a hidrólisis, lo cual produce lignina sustancialmente pura. La degradación de lignocelulósicos está regida principalmente por sus características estructurales porque la celulosa posee una estructura altamente ordenada y la celulosa circundante a la lignina forma una barrera física.

[0035] Se requiere pretratamiento para reducir el orden de la celulosa y aumentar el área superficial. Los métodos de pretratamiento pueden ser físicos,

químicos, fisicoquímicos y biológicos, dependiendo del modo de acción. Los diferentes métodos de pretratamiento que se han usado para aumentar la digestibilidad de celulosa incluyen tratamiento con molino de bolas, tratamiento con molino de rodillo doble, tratamiento con molino de martillos, tratamiento con molienda de coloides, tratamiento a alta presión, tratamiento de radiación, pirólisis, tratamiento catalítico, tratamiento ácido, tratamiento alcalino, tratamiento con solvente orgánico, tratamiento con vapor, tratamiento al calor, tratamiento a pH bajo, tratamiento de explosión de vapor, tratamiento de pulpeo, tratamiento con hongos blancos de putrefacción, y explosión de fibra de amoníaco y combinaciones de los mismos. Una discusión adicional de pretratamientos se pueden encontrar en Holtzapple *et al.* (Patente US No. 5,865,898; aquí incorporada mediante referencia). El tiempo de exposición, temperatura, y pH son las métricas adicionales que rigen la medida a la cual las fracciones de carbohidrato celulósico son clivadas durante el pre-tratamiento y susceptibles de hidrólisis enzimática adicional en los pasos de conversión biológica posteriores.

[0036] La explosión de vapor ha sido identificada como una tecnología de bajo costo y alto rendimiento, junto con la autohidrólisis de vapor a baja presión. La explosión de vapor calienta la lignocelulosa humedecida hasta altas temperaturas (p.e., aproximadamente 160 °C a aproximadamente 230 °C) y libera la presión inmediatamente. La rápida descompresión evapora el agua atrapada en las fibras, lo que conduce a una reducción del tamaño físico de las fibras. Las temperaturas elevadas remueven el ácido acético de la hemicelulosa, lo que permite alguna autohidrólisis de la biomasa. En ciertas realizaciones, se pueden agregar agentes químicos adicionales, tales como ácido sulfúrico o amoníaco (p.e., gaseosa, líquido anhidro, o hidróxido de amonio), para ayudar a la hidrólisis. En ciertas realizaciones, la celulosa pretratada puede entonces ser esterilizada para evitar el crecimiento de otros microorganismos durante la reacción de fermentación. En algunas

realizaciones, no se agregan tratamientos químicos fuertes a la biomasa lignocelulósica. Alternativamente, el pH de la biomasa puede ser ajustado mediante la adición de una base o un ácido. En algunas realizaciones, el pH del material lignocelulósico es mantenido entre aproximadamente 5 a aproximadamente 8. En otras realizaciones, el pH del material lignocelulósico es mantenido entre aproximadamente 6 a aproximadamente 8.

[0037] En ciertas realizaciones adicionales, el pre-tratamiento es una combinación de tratamiento con vapor y tratamiento al calor. En ciertas realizaciones del tratamiento con vapor e hidrólisis, la biomasa lignocelulósica es sometida a presión de vapor de entre 100 psig y 700 psig. Se puede arrastrar un vacío dentro del reactor para remover el aire, por ejemplo, a una presión de aproximadamente 50 a aproximadamente 300 mbar. La biomasa lignocelulósica puede ser pre-humedecida hasta un contenido de humedad de entre aproximadamente 60% a aproximadamente 80%. En algunas realizaciones, el contenido de humedad es de aproximadamente 65% a aproximadamente 75%. Se puede agregar vapor al reactor que contiene el material lignocelulósico a una presión de vapor saturado de entre aproximadamente 100 psig y aproximadamente 700 psig. En algunas realizaciones se puede usar una presión de vapor saturado de aproximadamente 140 psig a aproximadamente 300 psig. La temperatura del tratamiento al calor puede ser de aproximadamente 165 °C a aproximadamente 220 °C. En algunas realizaciones, la temperatura puede ser de aproximadamente 175 °C a aproximadamente 210 °C, o aproximadamente 180 °C a aproximadamente 220 °C.

[0038] El pretratamiento con vapor de la presente invención puede ser un pretratamiento por lotes o continuo. En el pretratamiento continuo, la materia prima humedecida es comprimida mediante un tornillo rotatorio que alimenta el material en el reactor a alta presión. La compresión del material entrante sirve

para mantener la presión en el reactor de pretratamiento. El material es posteriormente transportado a través del reactor de pretratamiento mediante un tornillo rotatorio. El ajuste del tiempo de residencia se hace controlando la tasa de alimentación del material a través del reactor. Durante la despresurización, puede ser ventajoso reducir adicionalmente el tamaño de la biomasa mediante el uso de un refinador mecánico. Un "refinador" puede significar un aparato capaz de reducir el tamaño de una partícula. Se puede refinar el material lignocelulósico aquí descrito usando refinadores disponibles comercialmente. Por ejemplo, las refinadoras de disco hechas por Metso y Andritz según sea apropiado para este propósito. Tales aparatos puede incluir discos rotatorios únicos o múltiples, o puede ser de otro diseño, y puede operar ya sea bajo una presión fijada o a presión atmosférica. Un refinador puede ser un molinillo de placa, un molinillo de madera, o un desintegrador. Los desintegradores fabricados por Hosokawa se pueden usar para refinar el material lignocelulósico pretratado.

[0039] Durante tal pretratamiento con vapor, los ácidos presentes en la materia prima pueden aumentar el pH del sistema de manera que se producen subproductos de azúcar indeseables. En algunas realizaciones de la presente invención, se puede agregar una base para reducir el pH del sistema. En algunas realizaciones, la base mantiene el pH del sistema en un rango de aproximadamente 4 a aproximadamente 9, o de aproximadamente 5 a aproximadamente 8, o de aproximadamente 6 a aproximadamente 7.

[0040] En ciertas realizaciones de la presente invención, el pretratamiento con vapor produce una materia prima lignocelulósica que es sustancialmente libre de aditivos químicos tales como compuestos de azufre, licores minerales, bases fuertes, ácidos fuertes y similares. El uso de estos aditivos puede evitar la acción óptima de los procesos de purificación de lignina biológicos y puede conducir a impurezas en trazas en el producto de lignina

eventual. Estas impurezas pueden a su vez disminuir la utilidad de la lignina para uso posterior, por ejemplo en el procesamiento adicional como un aditivo para combustible.

[0041] Después del pretratamiento, la mezcla de carbohidrato resultante puede ser convertida adicionalmente a monosacáridos usando conversión biológica mediante, ya sea, hidrólisis de enzima y/o microbios. Invenciones previas han empleado hidrólisis ácida, que aunque es simple, produce muchos productos de degradación indeseables. La hidrólisis enzimática, sin embargo, mediante enzimas tales como celulasas, endoglucanasas, exoglucanasas, celobiohidrolasas, β -glucosidasas, xilanasas, endoxilanasas, exoxilanasas, β -xilosidasas, arabinoxilanasas, manasas, galactasas, pectinasas, glucuronidasas, amilasas, α -amilasas, β -amilasas, glucoamilasas, α -glucosidasas, isoamilasas proporciona lo más limpio en el sentido que es menos probable que produzca subproductos perjudiciales a los pasos de procesamiento de lignina posteriores. Tales enzimas de sacarificación que realizan la hidrólisis pueden ser producidas sintéticamente, semi-sintéticamente o biológicamente, usando microorganismos recombinantes.

[0042] En ciertas realizaciones, un organismo recombinante se selecciona del grupo que consiste de *Escherichia coli*, *Zymomonas mobilis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Clostridium thermocellum*, *Kluyveromyces marxianus*, *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, *Pichia stipitis*, *Escherichia*, *Zymomonas*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, y *Clostridium*. En ciertas realizaciones, el organismo recombinante puede realizar la hidrólisis y fermentación concurrentemente, también conocido en la técnica como sacarificación simultánea y co-fermentación (SSF de SSCF). En ciertas realizaciones de la presente invención, los organismos de fermentación pueden ser seleccionados de bacterias, hongos, levadura o una combinación de los mismos.

[0043] En algunas realizaciones de la presente invención, los microorganismos de la invención son modificados genéticamente para expresar enzimas de celulasa para facilitar la remoción de celulosa a partir del material lignocelulósico. Celulasas adecuadas incluyen endoglucanasas, celobiohidrolasas, y β -glucosidasas. Alternativamente, en algunas realizaciones, se pueden agregar celulasas exógenas a la mezcla de fermentación con el fin de facilitar la hidrólisis de celulosa y hemicelulosa. Las enzimas adecuadas para el proceso de la invención, incluyen sin limitación, las listadas anteriormente. El experto en la técnica determinará fácilmente qué combinación de enzimas es la más útil para los procesos de la invención con base en el tipo de materia prima a ser usada.

[0044] La presente invención provee la expresión heteróloga de secuencias de polinucleótido *cbh1* y/o *cbh2*. En algunas realizaciones, las *cbh1* y/o *cbh2* es de *Talaromyces emersonii* (*T. emersonii*), *Humicola grisea* (*H. grisea*), *Thermoascus aurantiacus* (*T. aurantiacus*), y *Trichoderma reesei* (*T. reesei*). La presente invención también provee la expresión heteróloga de una endoglucanasa. En algunas realizaciones, la endoglucanasa es de *T. reesei*. En algunas realizaciones, la presente invención provee la expresión de una β -glucosidasa. La β -glucosidasa puede ser cualquier β -glucosidasa adecuada. En algunas realizaciones la β -glucosidasa es de *S. fibuligera*.

[0045] En algunas realizaciones, los genes que codifican las enzimas expresadas por los organismos de la invención son optimizadas de codón para la expresión en el organismo hospedero.

[0046] En la técnica se aprecia que el componente de lignina del material lignocelulósico absorbe las enzimas de celulasa y por ende las secuestra lejos de la celulosa, conduciendo a actividad enzimática reducida. En algunas

realizaciones de la presente invención, se pueden usar proteínas o péptidos económicos con el fin de bloquear los sitios adherentes de celulasa no específicos de la lignina. Proteínas adecuadas incluyen proteína de soya, proteínas de desecho del procesamiento de pescado, alimentos básicos dañados o que expiraron, proteínas de algas, albúmina, proteína de suero, desechos del procesamiento de granos, desechos del procesamiento de azúcar, o cualquier proteína económica adecuada.

[0047] En algunas realizaciones de la invención, dos o más microorganismos de la invención pueden ser co-cultivados. "Co-cultivar" consiste en dejar que al menos dos cepas o especies diferentes de microorganismos crezcan en el mismo recipiente de reacción o en el mismo sustrato en diferentes recipientes de reacción en comunicación fluida entre sí. Los diferentes organismos pueden digerir diferentes componentes del material lignocelulósico, o pueden actuar en forma aditiva, o sinérgicamente para digerir los componentes de celulosa y hemicelulosa de la materia prima. En algunos aspectos de la invención, los organismos co-cultivados son *Clostridium* y *Thermoanaerobacterium*. En algunos aspectos, los organismos co-cultivados son *Clostridium thermocellum* y *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*. Alternativamente, se pueden cultivar dos o más microorganismos en una serie, cultivando un microorganismo primario, seguido opcionalmente por la remoción del microorganismo primario, y luego cultivando uno o más organismos adicionales en el sustrato.

[0048] En ciertas realizaciones de la presente invención, los pre-tratamientos lignocelulósicos ocurren a mayor temperatura, tiempos de residencia más largos, y menor pH para iniciar una hidrólisis en mayor extensión, lo cual reduce típicamente la carga de enzima adicional requerida para liberar los monómeros solubles que pueden ser metabolizados por los organismos responsables de la producción de etanol. Sin embargo, los pre-

tratamientos suaves producen típicamente más oligómeros de carbohidrato, requiriendo por tanto, mayores cargas de enzima para liberar los monómeros solubles adecuados para conversión.

[0049] La "fermentación" o "proceso de fermentación" se refiere a cualquier proceso que comprende un paso de fermentación. Un proceso de fermentación de la invención incluye, sin limitación, procesos de fermentación usados para producir alcoholes, ácidos orgánicos, cetonas, amino ácidos, gases, antibióticos, enzimas, vitaminas y hormonas. Los procesos de fermentación incluyen también procesos de fermentación usados en la industria de alcohol consumible, industria láctea, industria del cuero e industria del tabaco. El producto del proceso de fermentación es referido aquí como cerveza.

[0050] En ciertas realizaciones, los componentes de carbohidrato del material lignocelulósico son convertidos adicionalmente a cerveza mediante un paso de fermentación, que produce etanol y sólidos no fermentados, los cuales son ambos recuperados. Por consiguiente, en ciertas realizaciones de la presente invención, la conversión es conversión química o conversión biológica de una mezcla lignocelulósica reactiva para formar una cerveza. En ciertas realizaciones, la conversión química comprende hidrólisis ácida, hidrólisis de álcali, tratamiento con solvente orgánico o combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, la conversión biológica de la mezcla de carbohidrato reactiva para formar una cerveza comprende la adición de bacterias, hongos, levadura o una combinación de los mismos.

[0051] En algunas realizaciones, después de la fermentación, la lignina sustancialmente pura permanece como un sólido que puede ser separado de la fase líquida mediante centrifugación, filtración o usando una columna de destilación operada como un despojador de cerveza descrito, por ejemplo en la

Patente US No. 7,297,236. Un despojador de cerveza adecuado podría ser comprado en ICM, Inc., Colwich, KS, Delta-T, Inc., Williamsburg, VA., o Fagan, Inc., Granite Falls, MN.

[0052] Ciertas realizaciones de la presente invención comprenden además deshidratación, secado directamente o indirectamente, y recolección de la lignina sustancialmente pura. La deshidratación (o secado) de la lignina sustancialmente pura es útil en algunas realizaciones porque la humedad puede disminuir la eficiencia de las reacciones posteriores de la presente invención. La separación de los sólidos de la cerveza antes de la recuperación de etanol puede involucrar la deshidratación en una prensa de tornillo, la cual es seguida de secado. Sin embargo, la presencia de alcohol durante la separación de sólidos puede complicar el proceso de secado, requiriendo secadores de ciclo cerrado costosos y complejos y con un sistema de recuperación de vapor. La Patente U.S. Número 4,952,504 (incorporada mediante referencia) revela que el equipo, tal como una centrífuga de tamizado o prensa de tornillo, se puede usar para deshidratar sólidos después de la fermentación.

[0053] En ciertas realizaciones, la fuente de calor usada durante el despojo de etanol y deshidratación es directa. En otra realización, la fuente de calor es indirecta. Las fuentes de calor incluyen, pero no se limitan a vapor directo, vapor supercalentado directo, y vapor indirecto.

[0054] En ciertas realizaciones que involucran fuentes de calor indirectas, la cerveza puede ser alimentada a un aparato secador de paletas. La agitación proporcionada por el ensamble de paletas desagrega la cerveza y la transporta a través del recipiente como una capa delgada de sólidos en una ruta de flujo helicoidal a lo largo de una pared enchaquetada. Esto mejora la transferencia de masa de materiales volátiles, ideal para remover volátiles

atrapados estrechamente en materiales con tamaño de partícula fino o fluidez pobre. Las paletas minimizan la acumulación de sólidos con el fin de mantener una tasa de transferencia de calor alta. Estos factores combinados producen altos coeficientes de transferencia de calor. Esta configuración es ventajosa porque evita los riesgos de taponamiento o incrustaciones presente en la bandeja de la columna de cerveza tradicional y diseño de hervidor.

[0055] En ciertas realizaciones que involucran las fuentes de calor directas, la cerveza es alimentada a un secador al cual se le agrega vapor o vapor supercalentado. Este secador puede ser un recipiente con movimiento positivo proporcionado por un tornillo o paleta, o puede ser un sistema de secado de ciclo cerrado más complejo. En el primer caso, la configuración es como se explica para calentamiento indirecto. La cerveza es alimentada a un aparato secador de paletas en el cual el mezclado y la desagregación son habilitadas mediante un ensamble de paleta; corriente de etanol-vapor de agua es mezclada desde el aparato. En el último caso, los secadores de vapor supercalentado se usan para liberar calor a los sólidos y el contenido de humedad a ser evaporado. El calor del vapor supercalentado es transferido al producto más frío a medida que pasa a través de un ducto diseñado para un tiempo de exposición particular. Este calor vaporiza una porción de la humedad de los sólidos, y una corriente de purga es retirada constantemente del ciclo para mantener la presión. El agua y el vapor de etanol en esta corriente de purga son descargados del recipiente y pasados a una columna de destilación en donde el etanol y el agua son separados sin la presencia de sólidos insolubles. Esta configuración es ventajosa porque seca de manera eficiente los sólidos y permite la recuperación de vapor del etanol.

[0056] En algunas realizaciones adicionales que involucran fuentes de calor indirectas, el material de alimentación es bombeado o transportado a un aparato secador de paletas. La agitación proporcionada por el ensamble de

paleta desagrupa y transporta el material producto a través del recipiente como una capa delgada de sólidos en una ruta de flujo helicoidal a lo largo de la pared enchaquetada, produciendo unos coeficientes de transferencia de calor muy altos. Las paletas minimizan la acumulación de sólidos con el fin de mantener una alta tasa de transferencia de calor y frecuentemente, para transportar los sólidos. El secado es establecido desde una superficie calentada en contacto con el producto. A medida que los sólidos son acaracolados a lo largo del interior de la pared del recipiente, el calor es transferido mediante conducción. La corriente de agua y vapor de etanol es descargada desde el recipiente y pasada a una columna de destilación en donde el etanol y el agua son separados sin la presencia de sólidos insolubles.

[0057] En algunas realizaciones, los sólidos insolubles son luego removidos mediante centrifugación. Centrífugas adecuadas incluyen un decantador de clarificación, centrífuga decantadora, o separador continuo disponible en Westfalia Corporation o Alfa Laval Corporation.

[0058] En ciertas realizaciones del proceso, dicha conversión comprende hidrolizar celulosa y hemi-celulosa; para formar azúcares monoméricos; y fermentar dichos azúcares monoméricos para producir etanol y lignina sustancialmente pura.

[0059] En algunas realizaciones adicionales de la presente invención, la hidrólisis comprende hidrolizar enzimáticamente celulosa y hemi-celulosa para formar azúcares monoméricos.

[0060] En algunas realizaciones adicionales, dicha hidrólisis comprende la hidrólisis química de celulosa y hemi-celulosa para formar azúcares monoméricos.

[0061] En otras realizaciones, la hidrólisis y fermentación tienen lugar en recipientes separados.

[0062] En algunas realizaciones, después de una fermentación o conversión biológica, la corriente de lignina puede ser opcionalmente lavada con agua y luego opcionalmente tratada además con enzimas con el fin de hidrolizar las impurezas remanentes tales como azúcares. Enzimas apropiadas incluyen, pero no se limitan a, celulasas, endoglucanasas, exoglucanasas, celobiohidrolasas, β -glucosidasas, xilanasas, endoxilanasas, exoxilanasas, β -xilosidasas, arabinoxilanasas, manasas, galactasas, pectinasas, glucuronidasas, amilasas, α -amilasas, β -amilasas, glucoamilasas, α -glucosidasas, isoamilasas. Las enzimas pueden ser agregadas exógenamente. Después de tal tratamiento enzimático, la lignina puede ser secada y/o procesada adicionalmente.

[0063] En ciertas realizaciones, dicha hidrólisis y fermentación ocurre concurrentemente en el mismo reactor. En tales casos, se pueden incluir una o más enzimas de hidrólisis (sacarificación) mencionadas anteriormente en la solución que contiene uno o más de los organismos de fermentación mencionados anteriormente. En algunas realizaciones, se puede realizar un paso de hidrólisis adicional antes del procesamiento de lignina posterior.

[0064] En algunas realizaciones, después de la purificación de lignina, la corriente enriquecida con lignina es entonces enviada a hidrotratamiento con éter, una operación unitaria estándar en refinación, o a pirólisis, un proceso que es bien entendido y usado para convertir la biomasa en productos líquidos y gaseosos. Ejemplos no limitantes de métodos de pirólisis se describen en USPN 7,578,927 y USPN 5,807,952. Los métodos no limitantes para hidrotratar lignina se describen en USPN 7,425,657, USPN 4,420,644 y USPN 6,172,272. En el caso de pirólisis, la materia prima resultante puede ser usada ya sea

directamente como una materia prima para una refinería, o hidrotratada para remover el azufre y aumentar el grado de saturación. En algunas realizaciones, la lignina purificada es procesada en pélets de combustible.

[0065] En algunas realizaciones, en el caso de hidrotratamiento, la mayoría de la celulosa y hemicelulosa remanente contenida en la materia prima enriquecida con lignina son convertidas a componentes de baja ebullición que pueden ser fácilmente separados en una unidad de separación de dos fases (tal como un tambor) después del hidrotratamiento y enfriamiento. Los componentes de baja ebullición pueden entonces ser usados para generar corriente (para producción de electricidad) en una caldera de gas o en un reformador para la producción de hidrógeno para uso en el hidrotratador. La cantidad de componentes de baja ebullición producidos serán una función de la conversión de celulosa y hemicelulosa a azúcares en procesos anteriores de la invención.

[0066] En algunas realizaciones, en el caso de pirólisis, la mayoría de la celulosa y hemicelulosa remanente es convertida a una mezcla de componentes solubles en agua contrario a la lignina que es convertida en una fracción soluble en aceite. La fracción derivada de lignina puede entonces ser exportada o hidrogenada como se describió anteriormente. La fracción acuosa puede entonces ser concentrada a través de un proceso tal como evaporación o ebullición, o usada como un alimentador del hervidor. Como en el caso anterior, la cantidad de componentes de fase acuosa producidos es una función de la conversión de los azúcares en la biomasa. La calidad del vapor o hidrógeno producido en el sitio puede, por consiguiente, ser influenciada directamente por la biomasa a la conversión de azúcar.

[0067] En algunas realizaciones, el hidrotratamiento de lignina produce compuestos en el aceite producto tales como fenoles, ciclohexanos, bencenos,

naftaleno, fenantrenos, y otras moléculas de hidrocarburo. En algunas realizaciones, la pirólisis se puede usar para procesar la lignina de alta pureza para producir aditivos para combustible y otros químicos útiles, tales como hidrocarburos. La lignina de la presente invención es especialmente útil para procesamiento adicional porque la lignina de la invención contiene niveles bajos de impurezas tales como cenizas, carbohidrato, y azufre. Niveles altos de estas impurezas pueden producir hidrólisis o pirólisis ineficiente, y producen productos indeseables.

[0068] La lignina producida mediante la presente invención supera los problemas asociados con los métodos previos para producir lignina y pueden producir lignina sustancialmente pura sin la necesidad de químicos fuertes, que pueden también interferir con el procesamiento de lignina posterior.

[0069] Una realización particular de la invención reivindicada, comprende:

- a. pretratamiento con vapor con un material lignocelulósico;
- b. someter dicho material lignocelulósico pretratado a conversión biológica para dar uno o más productos soluble y lignina; y,
- c. separar el uno o más productos solubles de dicha lignina para producir sólidos ricos en lignina;
- d. tratar los sólidos enriquecidos con lignina con un tratamiento de agua caliente líquida o vapor (tal como se describe en USPN 5,846,787);
- e. convertir biológicamente o hidrolizar los sólidos posteriores para dar un material que está enriquecido adicionalmente con lignina;

por medio del cual se produce un material de lignina sustancialmente pura con bajo contenido de azufre (de 2 a 10 veces que el carbón).

[0070] En algunas realizaciones, el material de la lignina sustancialmente pura que se produce mediante el proceso es una partícula fina (polvo) o polvo. En algunas realizaciones, la suspensión de este polvo en un aceite u otro residuo de petróleo pesado produce un combustible de alta energía, de impacto ambiental reducido, que es bombeable.

[0071] En algunas realizaciones, la adición de (lignina en polvo) finalmente dividida en el aceite que se deriva de la pirólisis de la biomasa se puede usar como un combustible de caldera o combustible de motor diesel. En algunas realizaciones, la peletización de la lignina produce un combustible sólido que tiene un bajo impacto ambiental y reemplazaría el carbón en las calderas de carbón boilers.

[0072] En algunas realizaciones, el polvo de lignina puede ser suspendido para propósitos de hidrocrackeo adicional de la suspensión para obtener un sustituto de combustible diesel.

[0073] Algunas realizaciones de la presente invención están ilustradas a continuación a manera de los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos

Ejemplo 1

Preparación de lignina de alta pureza usando enzimas exógenas

[0074] Una muestra de biomasa (la) se preparó a partir de astillas de madera dura mezcladas usando un reactor de pretratamiento continuo con post-refinación. El tiempo de residencia en el reactor era de 10 minutos y la temperatura de operación fue de 195°C. El pretratamiento usado fue vapor solamente; no se agregó ácido o base para controlar el pH.

[0075] El material pretratado resultante tenía la siguiente composición (base de sólidos secos):

Muestra	% de Glucano + Xilano	% de Lignina	% de cenizas
1a	63.0	n.a.*	n.a.*

*datos no disponibles.

[0076] Después del pretratamiento las muestras fueron lavadas para remover los sólidos solubles. 2500 g (peso húmedo) de muestra (50% de sólidos totales) se prensaron en un embudo de Buchner de 150 mm que contiene papel filtro Whatman Sharkskin. La muestra fue lavada al vacío con 3750 mL de agua desionizada a 50 °C. La muestra fue prensada a mano hasta que todo el líquido fue removido y la muestra fue entonces secada al aire a temperatura ambiente de vuelta al contenido de sólidos totales original del 50%.

[0077] Después del lavado, las muestras fueron hidrolizadas por 120 horas. Cada muestra fue hidrolizada en un lote de 8L en un fermentador Sartorius Biostat-B a una carga de sólidos totales inicial de 10%. Se agregaron enzimas de celulasa (Acelerasa 1000 - 66 mg de proteína/mL) y xilanasa comerciales (Multifect - 114 mg de proteína/mL) a una dosis de 100 mg de proteína/g de sólidos totales. Las condiciones de hidrólisis fueron 50°C a pH 5.0, y agitación de 500 rpm.

[0078] Después de la hidrólisis, la lignina fue recuperada. Los sólidos residuales fueron recuperados mediante filtración como se describió anteriormente, y lavados con 8L de agua desionizada a 50°C. Los sólidos lavados fueron transferidos a un horno de convección a 40 °C y secados por 24

horas. Los sólidos secados fueron transferidos a un frasco Erlenmeyer de 4L que contiene 2L de guanidina-HCl 7M. La mezcla resultante fue mantenida en una placa de agitación por 24 horas a 35 °C. De Nuevo los sólidos fueron recuperados mediante filtración al vacío y lavados con 8L adicionales de agua desionizada a 50 °C. La lignina resultante fue transferida a un horno de convección y secada por 24 horas a 40 °C para dar una muestra de lignina seca (1b).

[0079] La composición (base de sólidos secos) del producto de lignina resultante era la siguiente:

Muestra	% de Glucano + Xilano	% de Lignina	% de cenizas
1b	10.2	84.6	1.25

Ejemplo 2

Preparación de lignina de alta pureza usando enzimas exógenas y SSCF

[0080] Una muestra de biomasa (2a) se preparó a partir de astillas de abedul de papel usando un reactor de pretratamiento continuo con post-refinación. El tiempo de residencia n el reactor era de 10 minutos y la temperatura de operación era de 195°C. El pretratamiento usó vapor solamente; no se agregaron ácido o base para controlar el pH.

[0081] El material pretratado resultante (2a) tenía la siguiente composición (sólidos en base seca):

Muestra	% de Glucano + Xilano	% de Lignina	% de cenizas
2a	59.7	13.9	n.a.*

* Datos no disponibles

[0082] Después del pretratamiento, la muestra fue lavada para remover los sólidos solubles. 800g (peso húmedo) de 2a (45% de sólidos) fueron prensados en un embudo Buchner de 150 mm que contiene papel filtro Whatman Sharkskin. La muestra fue lavada al vacío con 350 ml de agua desionizada a 25°C. La muestra fue prensada a mano hasta remover todo el líquido, y la muestra fue entonces secada al aire a temperatura ambiente durante la noche.

[0083] Después del lavado, la muestra fue preparada para Sacarificación y Co-Fermentación Simultáneas (SSCF). Un Sartorius Biostat-A+fermentador de 2L fue esterilizado inicialmente vacío y se agregaron los siguientes materiales:

[0084] 263g de 2a lavada; 50 mL de solución nutriente que contiene 3g de licor de maíz macerado, 3g de fosfato de diamonio, y 1.23g de sulfato de magnesio; 293.70 mL de agua desionizada; 30.3 mL de enzima celulasa (Acelerasa 1000).

[0085] El pH fue ajustado hasta 5.0 con KOH 5M y la mezcla fue pre-hidrolizada por 3 horas a 50°C, después de lo cual se adicionaron 263 g adicionales de 2a lavada y se pre-hidrolizaron adicionalmente por 3 horas adicionales. La mezcla fue enfriada hasta 35°C, y se adicionó 1 mL de penicilina-G para dar 3 mg/L de concentración final de penicilina-G.

[0086] Mientras tanto se preparó un inóculo para la SSCF. La cepa MO509 es una cepa diseñada genéticamente de *Saccharomyces cerevisiae* que es capaz de fermentar eficientemente la xilosa mediante: 1) regulación ascendente de los genes *TAL1*, *TKL1*, *RPE1*, y *RKII* de la ruta de pentosa fosfato de levadura endógena; 2) la expresión heteróloga de xilosa isomerasa y

xilulosa quinasa; 3) deleción de una aldosa reductasa no específica. Esta cepa es enseñada en WO 2006/009434 A1, que está aquí incorporada mediante referencia en su totalidad.

[0087] Se preparó un medio YPX usando 10 g/L de extracto de levadura, 20 g/L de peptona, y 20 g/L de xilosa, y se filtró esterilizó. Se transfirieron 50 mL de YPX a un frasco deflector estéril de 250 mL con cerramiento de espuma. El frasco fue inculado con MO509 de una placa de agar y colocado en un incubado a 30°C y 250 rpm. Después de 16 horas, se agregaron 50 ml adicionales de YPX al frasco. Después de un tiempo de inoculación total de 24 horas, se transfirieron 100 mL de inóculo al fermentador y se inició la SSCF.

[0088] La SSCF se condujo a 35°C con el pH controlado en el rango de 4.8-5.0. Después de 120 horas de fermentación, la concentración de etanol había alcanzado 39 g/L mientras que la glucosa y xilosa eran de aproximadamente 1 g/L cada una.

[0089] Después de la fermentación se recuperó la lignina. El caldo de fermentación fue primero sometido a hervido en autoclave a 121°C por 10 minutos, después de lo cual los sólidos fueron recuperados mediante filtración en embudo de Buchner descrita anteriormente, y lavados con 8L de agua desionizada a 50°C. Los sólidos lavados fueron transferidos a un horno de convección a 40°C y secados por 24 horas.

[0090] La composición (sólidos en base seca) del producto de lignina resultante (2b) era la siguiente:

Muestra	% de Glucano + Xilano	% de Lignina	% de cenizas
2b	23.9	73.4	0.34

Ejemplo 3

Producción de lignina de alta pureza usando biotratamiento de dos etapas

[0091] Después de la fermentación, los sólidos ricos en lignina fueron separados de la fracción líquida después de una reacción de fermentación. El material fue tratado con agua caliente líquida a una carga de 30% de sólidos secos (300 g de sólidos secos /L de líquido) a 200 °C por 10 min (más 5 min de tiempo de calentamiento). Las condiciones de tratamiento aplicadas son las condiciones de pretratamiento óptimas para hidrólisis de álamo. El tratamiento de agua caliente líquida se realizó usando un reactor de tubos de acero inoxidable de 1" OD y 4.5" de longitud. El tubo que contiene la suspensión fue colocado en un baño de arena fluidizada que fue ajustado hasta 200 °C como se describe en USPN 5,846,787.

[0092] La suspensión tratada con agua caliente líquida fue hidrolizada a una carga de 5% o 30% de sólidos secos. Para hidrólisis con 5% de sólidos secos, se agregó amortiguador de citrato a pH 4.8 a la suspensión para diluirla hasta 5% de sólidos secos. La carga de enzimas para la hidrólisis secundaria fue de 15 FPU Spezyme CP y 40 IU Novol99 por gramo de glucano. La hidrólisis se llevó a cabo a 200 rpm, 50 °C por 72 horas. Las muestras fueron analizadas mediante columna Aminex HPX-87-H.

[0093] A continuación se resumen las corridas hechas en este estudio. Las corridas de control se refieren a hidrólisis del sustrato sin tratamiento con agua caliente líquida.

Experimentos	Tratamiento con agua caliente líquida	Paso de lavado después del tratamiento	Carga de sólidos secos para hidrólisis
--------------	---------------------------------------	--	--

47

Control1	No	-	5% (p/v)
Control2	No	-	30% (p/v)
Experimento 1	Si, 30% p/v de carga de sólidos, 200 °C, 10 min (+ 5 min de calentamiento)	No	5% p/v
Experimento 2	Si, 30% p/v de carga de sólidos, 200 °C, 10 min (+ 5 min de calentamiento)	No	30% p/v
Experimento 5	Si, 30% p/v de carga de sólidos, 200 °C, 10 min (+ 5 min de calentamiento)	Si, (agua desionizada a 80-90 °C inmediatamente después del pretratamiento, 500 mL/tubo)	30% p/v

[0094] La tabla siguiente resume las composiciones del sustrato, antes y después del tratamiento con agua caliente y la hidrólisis enzimática secundaria. Después de la hidrólisis enzimática secundaria, el xilano fue removido completamente de los sólidos de fermentación. El contenido de glucano es reducido de 19% a 11% debido a la hidrólisis. Como resultado, la lignina aumentó de 60% a 75%.

	Sólidos de fermentación		Sólidos de fermentación después del tratamiento con agua caliente, lavado, e hidrólisis enzimática	
Componente	% de masa seca	Desviación Relativa	% de masa seca	Desviación Relativa
Glucano	18.92%	3.12%	10.5%	2.0%

Xilano/Galactano	4.47%	3.06%	Ninguno	
Arabinano	Ninguno		Ninguno	
Acetilo	Ninguno		Ninguno	
Lignina Total	58.7%		74.9%	
Residuo Insoluble ácido	55.47%	1.07%	71.0%	0.6%
Cenizas	4.18%	1.58%	4.5%	27.1%
Balance de Masa	86.24%		89.9%	

Ejemplo 4

Producción y caracterización de lignina de alta pureza

[0095] Los sólidos de fermentación fueron obtenidos como se describió anteriormente. El sustrato a 30% p/p de sólidos secos fue tratado con agua caliente líquida a 200 °C, 5 min (+5 min de tiempo de calentamiento). Como los sólidos de fermentación ya estaban a 30% de sólidos secos p/p (70% de humedad), no se añadió agua adicional. Se generaron aproximadamente 3 kg de los sólidos tratados con agua caliente líquida.

[0096] La suspensión tratada con agua caliente líquida se dividió en cuatro botellas de Nalgene de 1 L (~750 mL de sólidos por botella) y se agregó agua tibia (~80 °C) a las botellas para lavado. El paso de lavado se llevó a cabo dos veces. Cada vez se usaron aproximadamente 1.5 L de agua tibia por botella para lavas la solución pretratada. El lavado fue removido mediante filtración usando papel filtro No. 1 (tamaño de poro = 11µm). Se agregó un amortiguador de citrate 50 mM a pH 4.8 a cada botella para llevar el volumen total hasta 1 L. La suspensión resultante era de aproximadamente 15% de sólidos secos en peso por volumen de líquido. El material fue transferido a in frasco Erlenmeyer de 1 L y se agregaron 15 FPU Spezyme CP celulasa y 40

CBU Novozym 188 beta-glucosidasa por gramo de glucano para la hidrólisis enzimática secundaria. La suspensión fue incubada a 50 °C a 200 rpm. Después de 84 hrs, el líquido hidrolizado fue removido mediante filtración y los sólidos retenidos fueron lavados con agua tibia. Los sólidos fueron dispersados en bandejas para secar a 45 °C por 5 hrs. Se retuvo una alícuota de 10 g de los sólidos secos para el análisis de composición. Un total de 150 g de sólidos de fermentación originales (humedad = 3.8%) y 150 g de sólidos de fermentación hidrolizados enzimáticamente (humedad = 3.5%) fueron enviados a Consol Energy Inc. (South Park, PA) para las medidas de valor calorífico y contenido de azufre.

[0097] La siguiente tabla muestra las composiciones de sólidos de fermentación y lignina purificada generada a partir de los sólidos de fermentación después del tratamiento con agua caliente líquida e hidrólisis:

	Sólidos de fermentación		Sólidos de fermentación después del tratamiento con agua caliente, lavado, e hidrólisis enzimática secundaria	
Componente	% de masa seca	Desviación Relativa	% de masa seca	Desviación Relativa
Glucano	18.92%	3.12%	14.0%	8.2%
Xilano/Galactano	4.47%	3.06%	2.3%	8.2%
Arabinano	Ninguno		Ninguno	
Acetilo	Ninguno		Ninguno	
Lignina Total	58.7%		67.4%	
Cenizas	4.18%	1.58%	4.5%	
Balance de	86.24%		88.2%	

Masa				
------	--	--	--	--

[0098] Debido a la remoción de glucano y xilano de los sólidos de fermentación por la hidrólisis enzimática secundaria, el contenido de lignina total de la lignina resultante generada en laboratorio aumentó de 60% a 67%. La conversión de celulosa remanente en los sólidos de fermentación a glucosa fue de aproximadamente 60%, produciendo 18 g/L de concentración de glucosa en el hidrolizado. El balance de masa total no llegó hasta 100% posiblemente debido a que otros componentes, tales como proteínas, no se midieron.

[0099] El contenido de azufre y el poder calorífico de los sólidos de fermentación y los sólidos de fermentación hidrolizados enzimáticamente se midieron en Consol Energy Inc. (South Park, PA). El conteido de azufre se midió como si se usara para calcular un valor calorífico bruto preciso. Por definición, el valor calorífico bruto se obtiene cuando el producto de la combustión de azufre es SO₂. En los procesos de combustión de bomba reales, todo el azufre se encuentra como H₂SO₄. El contenido de azufre se usó específicamente para corregir la energía de formación de ácido sulfúrico. Los resultados de las mediciones se dan en la siguiente tabla:

	Humedad (%)	Contenido de Azufre (% en peso seco)	Poder calorífico (HHV) (BTU secos/lb)
Sólidos de fermentación	3.8%	0.12% (± 0.02%)	9203.7 (± 220.0)
Lignina (tratada con agua caliente líquida/sólidos de fermentación hidrolizados)	3.5%	0.09% (± 0.0%)	9884.0 (± 144.8)

[00100] Se describen los contenidos de azufre y poder calorífico de los sólidos de fermentación y lignina generados mediante el tratamiento con agua caliente líquida e hidrólisis enzimática. Los números en paréntesis son errores del índice de confianza del 95%.

[00101] Tanto los sólidos de fermentación como la lignina generada mediante el tratamiento con agua caliente líquida e hidrólisis enzimática secundaria después del secado en horno a 45 °C contenían menos del 4% de humedad. El contenido de azufre para los sólidos de fermentación y la lignina generada mediante el tratamiento con agua caliente líquida y posterior hidrólisis enzimática era de menos de 0.2% en peso seco. La lignina preparada ya sea por fermentación sola, o por tratamiento con agua caliente líquida posterior e hidrólisis enzimática contenía muy bajo azufre por Btu comparado con el carbón. En comparación, menos o igual a 0.6 lbs de azufre por millón de Btu de carbón es considerado carbón de bajo contenido de azufre (http://www.eia.doe.gov/cneaf/coal/coal_trans/chap3_1.html (Visitado en Octubre 14 de 2009)). El contenido de azufre de 0.1% en peso seco de la lignina generada por fermentación e hidrólisis enzimática posterior es equivalente a 0.09 lbs por millón de Btu. Es de 0.13 lbs por millón de Btu para los sólidos de fermentación.

[00102] La densidad de energía (poder calorífico) de los sólidos de fermentación y la lignina generada mediante tratamiento con agua caliente líquida e hidrólisis enzimática posterior fue de 9204 y 9884 Btu por lb, respectivamente. Como celulosa, que tiene un poder calorífico menor que la lignina es removida de los sólidos de fermentación, el poder calorífico aumentó. El poder calorífico de la lignina generada mediante tratamiento con agua caliente líquida e hidrólisis enzimática posterior fue comparable con los poderes caloríficos de la lignina (11324 Btu/lb, 11469 Btu/lb), publicados previamente (Robert Wooley, "Development of an ASPEN PLUS physical property database

for biofuels component", ANREL/TP-425-20685, 1996). La densidad de energía del carbon es aproximadamente 10334 Btu/lb y varía entre 7800-12500 Btu/lb. (Fisher, Juliya (2003). "Energy Density of Coal". The Physics Factbook. <http://hypertextbook.com/facts/2003/JuliyaFisher.shtml>). Los resultados sugieren que la lignina generada de la madera tiene contenidos de energía ligeramente menores o muy similares al carbón.

[00103] Estos ejemplos ilustran posibles realizaciones de la presente invención. Aunque la invención ha sido mostrada particularmente y descrita con referencia a algunas realizaciones de la misma, los expertos en la técnica entenderán que han sido presentadas a manera de ejemplo solamente, y no limitación, y que se pueden hacer varios cambios en forma y detalle sin apartarse del espíritu y alcance de la invención. Así, la amplitud y alcance de la presente invención no debe ser limitado por ninguna de las realizaciones ejemplares descritas anteriormente, sino que deben ser definidas solamente de acuerdo con las siguientes reivindicaciones y sus equivalentes.

[00104] Todos los documentos aquí citados, incluyendo artículos de revistas o resúmenes, publicados o correspondientes a solicitudes de patente americanas o extranjeras, patentes emitidos o extranjeras, o cualquier otro documento, están cada una incorporadas enteramente mediante referencia en la presente, incluyendo todos los datos, tablas, figuras, y textos presentados en los documentos citados.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para tratar un material lignocelulósico, que comprende:
 - (a) pretratar con vapor un material lignocelulósico
 - (b) someter dicho material lignocelulósico pretratado a conversión biológica para dar uno o más productos solubles y lignina; y,
 - (c) separar el uno o más productos solubles de dicha lignina para producir una lignina sustancialmente pura.
2. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho tratamiento de dicho material lignocelulósico comprende el no uso de solvente diferente a agua líquida o vapor.
3. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho pretratamiento con vapor tiene lugar en un lote.
4. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho pretratamiento con vapor tiene lugar de una manera continua.
5. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho pretratamiento con vapor comprende colocar el material lignocelulósico en una cámara presurizada.
6. El proceso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicho pretratamiento con vapor comprende tratar con vapor presurizado dicho material lignocelulósico en un rango de temperatura de 150-250 °C.

7. El proceso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicho pretratamiento con vapor comprende tratar con vapor presurizado dicho material lignocelulósico en un rango de temperatura de 180-220 °C.
8. El proceso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde dicho pretratamiento con vapor comprende tratar con vapor presurizado dicho material lignocelulósico entre cinco y quince minutos.
9. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho pretratamiento con vapor comprende despresurización rápida.
10. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho pretratamiento con vapor comprende post-refinar para reducir el tamaño de partícula.
11. El proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho pretratamiento con vapor es controlado de pH mediante la adición de una base para mantener el pH entre aproximadamente 5 y 8.
12. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha conversión biológica comprender fermentar dicho material lignocelulósico.
13. El proceso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde dicha fermentación comprende fermentar mediante sacarificación y co-fermentación simultánea.
14. El proceso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde dicho material lignocelulósico es fermentado por un organismo seleccionado del grupo que

consiste de *Clostridium thermocellum*, *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluveromyces marxianus*, *Escherichia coli*, *Zymomonas mobilis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Pichia stipitis*, y *Escherichia coli*.

15. El proceso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde dicho organismo produce una o más celulasas o xilanasas.

16. El proceso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde dicha una o más celulasas se seleccionan del grupo que consiste de endoglucanasas, exoglucanasas, β -glucosidasas, celobiohidrolasas, endo-xilanasas, beta-xilosidasas, xilobiohidrolasas, exoxilanasas, β -xilosidasas, arabinoxilanasas, manasas, galactasas, pectinasas, glucuronidasas, amilasas, α -amilasas, β -amilasas, glucoamilasas, α -glucosidasas, e isoamilasas.

17. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha celulasa o xilanasas está unido a la superficie de la célula.

18. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dichas celulasas o xilanasas son agregadas exógenamente.

19. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde agua, etanol y uno o más productos solubles son separados de dicha lignina por un despojador de cerveza.

20. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1 o 19, en donde dicha lignina sustancialmente pura es separada de dicho uno o más productos solubles por un filtro.

21. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1 o 19, en donde dicha lignina sustancialmente pura es separada de dicho uno o más productos solubles mediante centrifugación.
22. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura es secada.
23. El proceso de acuerdo con la reivindicación 22, en donde dicha lignina sustancialmente pura es secada con calor.
24. El proceso de acuerdo con la reivindicación 22, en donde dicha lignina sustancialmente pura es secada con un solvente orgánico.
25. El proceso de acuerdo con la reivindicación 22, en donde dicha lignina sustancialmente pura es secada con etanol.
26. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura es al menos 50% pura.
27. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura es al menos 70% pura.
28. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura es al menos 80% pura.
29. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura es al menos 90% pura.

30. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura contiene no más de 0.4 por ciento de cenizas.
31. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura contiene no más de 0.2 por ciento de cenizas.
32. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura contiene no más de 0.1 por ciento de cenizas.
33. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura contiene no más de 11 por ciento de carbohidrato.
34. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura contiene no más de 5 por ciento de carbohidrato.
35. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura contiene no más de 2 por ciento de carbohidrato.
36. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura contiene no más de 1 por ciento de azufre.

37. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura contiene no más de 0.5 por ciento de azufre.
38. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicha lignina sustancialmente pura contiene no más de 0.25 por ciento de azufre.
39. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 22-25, en donde la lignina sustancialmente pura es procesada adicionalmente mediante hidrotratamiento.
40. El proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 22-25, en donde la lignina sustancialmente pura es procesada adicionalmente mediante pirólisis.
41. El proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la lignina sustancialmente pura se usa como materia prima para la producción de combustibles seleccionados del grupo que consiste de gas de síntesis, combustible líquido, combustible sólido, y especialmente químicos.
42. El proceso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dos o más microorganismos son cultivados en una serie, cultivando un microorganismo primario, seguido opcionalmente por la remoción del microorganismo primario, y luego cultivando uno o más organismos adicionales en el sustrato.
43. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde después del paso (c) la lignina sustancialmente pura es sometida a un segundo paso de hidrólisis.



No. 11-050980- -00000-0000

Fecha: 2011-04-26 16:40:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 64

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

- ☐ Indicación que solicita una patente
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser caso formato de descuento)

Completa ☐

Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ **MODELO DE UTILIDAD PCT** ☐ **Art .33 Decisión 486/00, Circular Única**

- (1) ☒ Indicación que se solicita una PCT
- (19) ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resume)
- (61) ☒ Dibujos de ser estos pertinentes.
- (2) ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☒

Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño Industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐

ESQUEMA TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación grafica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐



Bogotá D.C.,
2020

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Doctor(a)
LLOREDA RICAURTE ALICIA
Apoderado(a) y/o Representante de
MASCOMA CORPORATION

REFERENCIA	Radicación No.	11 050980
	Solicitud internacional	PCT/US2009/61040
	Fecha inicio fase nacional	17/05/2011
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	

08891

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.
2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Continúa en la página siguiente...



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
LLOREDA RICAURTE ALICIA
Apoderado(a) y/o Representante de
MASCOMA CORPORATION

REFERENCIA	Radicación No.	11 050980
	Solicitud internacional	PCT/US2009/61040
	Fecha inicio fase nacional	17/05/2011
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	

08892

Teniendo en cuenta que el capítulo reivindicatorio presentado excede de diez reivindicaciones, es necesario que cancele la tasa establecida por cada reivindicación adicional presentada, de conformidad con lo dispuesto en la resolución de tasas vigente para la fecha de presentación de la solicitud, so pena de que no sean tenidas en cuenta dentro del presente trámite administrativo.

En consecuencia, con fundamento en lo previsto por el artículo 12 del Código Contencioso Administrativo, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio atienda el requerimiento aquí señalado. Lo anterior, con el alcance que para tal efecto establece el artículo 13 de la misma codificación, respecto de las reivindicaciones adicionales.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.

JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

03 JUN. 2011

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____.
adpa11