



No. 11-146151- -00000-0000

Fecha: 2011-10-28 12:07:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 379 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 75



Industria y Comercio
S U P E R I N T E N D E N C I A

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

**SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION**

21. **EXPEDIENTE No.** _____

54. **TÍTULO** _____ METODO PARA PRODUCIR AZUCARES DE BIOMASA LIGNOCELULOSICA

_____ QUE COMPRENDE UNA ETAPA DE DESLIGNIFICADO ALCOHOLICO-

_____ ALCALINO EN LA PRESENCIA DE H2O2

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** _____

71. **SOLICITANTE** _____ ANNIKKI GMBH

DOMICILIO _____ GRAZ, AUSTRIA

74. **APODERADO** _____ LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. **BOGOTÁ, D.C.,** _____



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-146151- -00000-0000

Fecha: 2011-10-28 12:07:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tia. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII

Act. 411 PRESENTACION Folios: 75

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

☒ Patente de Invención.
☐ Capítulo I.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☒ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: ANNIKKI GMBH

Sociedad constituida y existente bajo las leyes de Austria.

Dirección: Rankengasse 28a,
A-8020 Graz,
Austria

Domicilio: Graz,
Austria

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35

Teléfono: 347 36 11

Fax: 211 86 50

E-mail: clientes@cavelier.com

Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 35.456.344 T.P 23.555

4

INVENTOR (ES)
(72)

1. Karin FACKLER

Maerzstrasse 163/6,
A-1140 Viena,
Austria

2. Kurt MESSNER

Neuwaldeggerstrasse 14/3/7,
A-1170 Viena,
Austria

3. Chularat KRONGTAEW

Forsthausgasse 2-8/2613,
A-1170 Viena,
Austria

4. Ortwin ERTL

Goethestrasse 19,
A-8010 Graz,
Austria

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/AT2010/000137 Fecha: 30 de abril de 2010

Publicación Internacional No. WO 2010/124312 A3 Fecha: 04 de noviembre de 2010

6

Título (54)

METODO PARA PRODUCIR AZUCARES DE BIOMASA LIGNOCELULOSICA QUE COMPRENDE UNA ETAPA DE DESLIGNIFICADO ALCOHOLICO-ALCALINO EN LA PRESENCIA DE H2O2

7

Clasificación Internacional (51) C12P 007/010

8

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

AT
AT
AT

(32) Fecha

30 de abril de 2009
23 de septiembre de 2009
23 de diciembre de 2009

(31) Número de Solicitud

A 670/2009
A 1497/2009
A 2030/2009

9

Comprobante de pago No.: 11-103544 Fecha: 21 de octubre de 2011

Comprobante de pago No.: 11-101308 Fecha: 14 de octubre de 2011

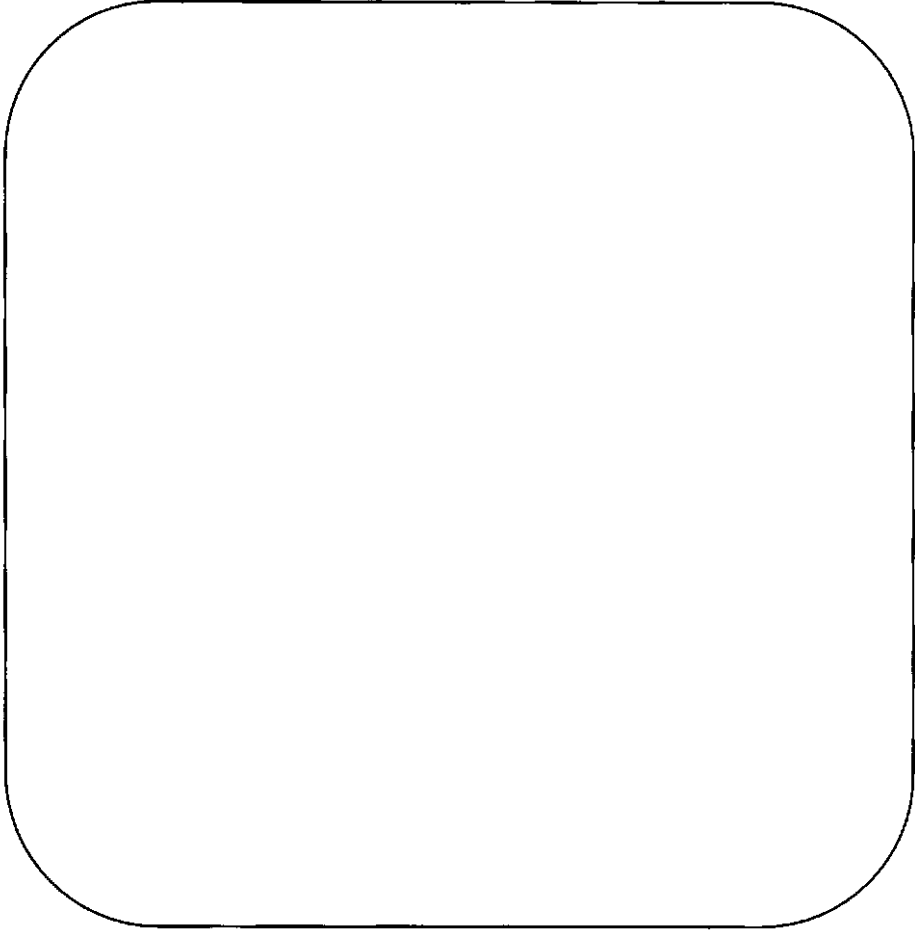
10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 571.000.00.
- ☒ Comprobante de pago por una reivindicación adicional después de la décima reivindicación por \$ 27.000.00.
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Poder, si fuere el caso de .
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia de la carátula de la Publicación Internacional WO 2010/124312 A3.
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☒ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ 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.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ 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, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA : Luz Clemencia De Paez

C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

JGG

4

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2010/124312 A3

Descripción:

Páginas 25 en español

Reivindicaciones: Número (s) 11

Figuras: Número (s)

2. ☒ Forma **PCT/ISA/2010**. Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Traducción Al Español De Los Anexos Presentados Junto Con El Informe Del Examen Preliminar Internacional.

4. ☒ Extracto de publicación.

**SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
4. November 2010 (04.11.2010)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer

WO 2010/124312 A3

(51) Internationale Patentklassifikation:

C12P 7/10 (2006.01) C12P 19/14 (2006.01)
C12P 7/18 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/AT2010/000137

(22) Internationales Anmeldedatum:
30. April 2010 (30.04.2010)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

A 670/2009 30. April 2009 (30.04.2009) AT
A 1497/2009 23. September 2009 (23.09.2009) AT
A 2030/2009 23. Dezember 2009 (23.12.2009) AT

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): ANNIKKI GMBH [AT/AT]; Rankengasse 28a,
A-8020 Graz (AT).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): FACKLER, Karin
[AT/AT]; Maerzstrasse 163/6, A-1140 Wien (AT).
MESSNER, Kurt [AT/AT]; Neuwaldeggstrasse 14/3/7,
A-1170 Wien (AT). KRONGTAEW, Chularat
[TH/AT]; Forsthausgasse 2-8/2613, A-1170 Wien (AT).
ERTL, Ortwin [AT/AT]; Goethestrasse 19, A-8010 Graz
(AT).

(74) Anwalt: SCHWARZ & PARTNER; Wipplingerstrasse
30, A-1010 Wien (AT).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): 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, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD,
RU, TJ, TM), europäisches (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).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eingehen (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe h)

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts:

30. Juni 2011

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING SUGARS FROM LIGNOCELLULOSIC BIOMASS, COMPRISING THE STEP OF ALCOHOLIC-ALKALINE DELIGNIFICATION IN THE PRESENCE OF H₂O₂

(54) Bezeichnung : VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON ZUCKERN AUS LIGNOCELLULOSEHALTIGER BIOMASSE, UMFASSEND EINEN SCHRITT DER ALKOHOLISCH-ALKALINEN DELIGNIFIKATION IN ANWESENHEIT VON H₂O₂

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing carbohydrate cleavage products, characterized by a combination of the following measures: lignocellulosic material is treated with an aqueous solution that contains hydrogen peroxide, an alcohol, in particular a C₁₋₄ alcohol or a phenol, and a base, in order to oxidatively cleave lignocellulose and to separate the cleavage products from the material. According to the invention, a material enriched with cellulose and hemicellulose is obtained, and the material obtained, which is enriched with cellulose and hemicellulose, is treated with a carbohydrate-cleaving enzyme in order to obtain the carbohydrate cleavage products.

(57) Zusammenfassung: Verfahren zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten, gekennzeichnet durch die Kombination der Maßnahmen, dass lignocellulosisches Material mit einer wässrigen Lösung, welche Wasserstoffperoxid, einen Alkohol, insbesondere einen C₁₋₄-Alkohol oder ein Phenol, und eine Base enthält, behandelt wird, um Lignocellulose oxidativ zu spalten und Spaltprodukte aus dem Material abzutrennen, wobei ein mit Cellulose und Hemicellulose angereichertes Material erhalten wird, und das erhaltene, mit Cellulose und Hemicellulose angereicherte Material mit einem Kohlenhydrat-spaltenden Enzym behandelt wird, um die Kohlenhydratspaltprodukte zu gewinnen.

WO 2010/124312 A3

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
4. November 2010 (04.11.2010)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2010/124312 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:
C12P 7/10 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/AT2010/000137

(22) Internationales Anmeldedatum:
30. April 2010 (30.04.2010)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
A 670/2009 30. April 2009 (30.04.2009) AT
A 1497/2009 23. September 2009 (23.09.2009) AT
A 2030/2009 23. Dezember 2009 (23.12.2009) AT

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): ANNIKKI GMBH [AT/AT]; Rankengasse 28a, A-8020 Graz (AT).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): FACKLER, Karin [AT/AT]; Maerzstrasse 163/6, A-1140 Wien (AT). MESSNER, Kurt [AT/AT]; Neuwaldeggerstrasse 14/3/7, A-1170 Wien (AT). KRONGTAEW, Chularat [TH/AT]; Forsthausgasse 2-8/2613, A-1170 Wien (AT). ERTL, Ortwin [AT/AT]; Goethestrasse 19, A-8010 Graz (AT).

(74) Anwalt: SCHWARZ & PARTNER; Wipplingerstrasse 30, A-1010 Wien (AT).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): 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, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (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).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe g)

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING CARBOHYDRATE CLEAVAGE PRODUCTS FROM A LIGNOCELLULOSIC MATERIAL

(54) Bezeichnung : VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON KOHLENHYDRATSPALTPRODUKTEN AUS EINEM LIGNOCELLULOSISCHEN MATERIAL

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing carbohydrate cleavage products, characterized by a combination of the following measures: lignocellulosic material is treated with an aqueous solution that contains hydrogen peroxide, an alcohol, in particular a C₁₋₄ alcohol or a phenol, and a base, in order to oxidatively cleave lignocellulose and to separate the cleavage products from the material. According to the invention, a material enriched with cellulose and hemicellulose is obtained, and the material obtained, which is enriched with cellulose and hemicellulose, is treated with a carbohydrate-cleaving enzyme in order to obtain the carbohydrate cleavage products.

(57) Zusammenfassung: Verfahren zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten, gekennzeichnet durch die Kombination der Maßnahmen, dass lignocellulosisches Material mit einer wässrigen Lösung, welche Wasserstoffperoxid, einen Alkohol, insbesondere einen C₁₋₄-Alkohol oder ein Phenol, und eine Base enthält, behandelt wird, um Lignocellulose oxidativ zu spalten und Spaltprodukte aus dem Material abzutrennen, wobei ein mit Cellulose und Hemicellulose angereichertes Material erhalten wird, und das erhaltene, mit Cellulose und Hemicellulose angereicherte Material mit einem Kohlenhydrat-spaltenden Enzym behandelt wird, um die Kohlenhydratspaltprodukte zu gewinnen.

WO 2010/124312 A2

METODO PARA PRODUCIR AZUCARES DE BIOMASA LIGNOCELULOSICA QUE
COMPRENDE UNA ETAPA DE DESLIGNIFICADO ALCOHOLICO-ALCALINO EN
LA PRESENCIA DE H2O2

5 DESCRIPCION DE LA INVENCION

La invención se refiere a un método para producir
productos de escisión de carbohidratos, en particular
azúcares, como pentosas y hexosas, a partir de un material
lignocelulósico. La invención se refiere además a un método
10 para obtener alcohol de azúcares. Para los fines de la
presente descripción y las reivindicaciones el concepto de
"azúcar" también deberá incluir "oligómeros de azúcar".

En conexión con la escasez de crudo (petróleo) y la
discusión sobre trigo como fuente de energía, la materia
15 prima renovable lignocelulosa (paja, madera, desechos de
madera, etc.) adquiere una gran importancia como material
inicial para combustibles o productos químicos. La conversión
de la lignocelulosa se puede efectuar de acuerdo a dos formas
fundamentalmente diferentes: 1) la "plataforma termoquímica"
20 en la que la lignocelulosa primero se gasifica y los gases de
la síntesis se sintetizan en productos deseados, y 2) la
"plataforma sacarosa" en la que el interés principal consiste
en el uso del azúcar ligado en los polímeros celulosa y
hemicelulosas, en tanto que la lignina todavía se usa
25 predominantemente de manera energética. La presente invención

se asocia a la segunda forma.

Contrariamente al almidón, los azúcares de la lignocelulosa se encuentran presentes en estructuras poliméricas cristalinas estrechamente reticuladas de la
5 celulosa y las hemicelulosas, que adicionalmente se encuentran cubiertas de una capa externa de lignina, mediante lo cual resulta un complejo extremadamente denso. La forma más evidente para obtener azúcar de lignocelulosa sería el uso directo de celulasas y hemicelulasas. Sin embargo, esto
10 se dificulta en la materia prima paja o madera debido a la densidad del complejo precedentemente mencionado. Debido a su elevado peso molecular los enzimas no están en condiciones de penetrar en la lignocelulosa a través de los estrechos poros. Esto significa que es necesario aplicar un primer paso que
15 aumenta la porosidad de la lignocelulosa y mediante ello permite el sacarificado enzimático adicional.

Este primer paso se designa "tratamiento preliminar" (tratamiento preliminar, disgregación). Siempre es muy costoso, de manera que en la producción de por ejemplo
20 "biocombustibles de segunda generación" es necesario aplicar para este propósito hasta 1/3 de los costos de producción, lo cual influye negativamente en la rentabilidad. Los procesos utilizados o bien pretenden primero licuar las hemicelulosas (por ejemplo tratamiento preliminar de vaporización
25 instantánea, dilución por ácido) u obtener el aumento de la

porosidad mediante licuefacción de lignina (por ejemplo, tratamiento previo de cal, amonio).

El sustrato de lignocelulosa disgregado se puede seguir tratando en forma enzimática para la obtención de azúcares y sus oligómeros, siendo que el tipo de tratamiento preliminar puede tener una enorme influencia sobre la actividad enzimática y el rendimiento. Con altas temperaturas de reacción frecuentemente resultan productos de descomposición tóxicos (por ejemplo furfural), los cuales en el caso de una fermentación directamente subsiguiente con etanol pueden inhibir las levaduras; ver por ejemplo Chandra et al., *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 108:67, 2007; Mansfield et al., *Biotechnol.Prog.* 15:804, 1999.

Estos métodos tienen la grave desventaja de que son intensivos en energía y se desarrollan predominantemente a temperaturas poco inferiores a 200°C.

Una mejora tecnológica en este aspecto, por ejemplo mediante el desarrollo de procesos de baja temperatura (es decir, a una temperatura inferior a 100°C) constituiría un progreso decisivo en el aprovechamiento de cualquier sustancia de la materia prima lignocelulosa. Esto es el objeto de la presente invención.

Por el documento EP 1 025 305 B1 se conoce un proceso químico para despolimerizar la lignina (sistema Cu).

Se funda en la actividad catalítica de complejos de cobre en combinación con peróxido de hidrógeno o hidroperóxidos orgánicos, y tiene la capacidad de escindir la lignina en forma oxidante a temperaturas inferiores a los 100°C. Los formadores de complejo que se usan en este caso son derivados de piridina. En modelos de lignina sintéticos se pudo comprobar que con el uso de H_2O_2 como agente de oxidación tiene lugar una escisión de los enlaces de éter de la molécula de lignina, debido a lo cual el polímero de lignina se desintegra en subunidades de oligómeros. Utilizando el sistema Cu con un exceso de hidroperóxidos orgánicos es posible deslignificar la madera. Técnicamente el sistema basado en H_2O_2 parece mejor realizable, se probó como aditivo decolorante en la decoloración con peróxido de celulosa Kraft y condujo a una mejor cuota de deslignificado y un grado de blancura mayor.

Además, por "Oxidation of wood and its components in water-organic media", Chupka et al., Proceedings: Seventh International symposium on wood and pulping chemistry, Vol. 3, 373-382, Beijing República Popular China, 25-28 de Mayo de 1993, se conoce que la eficiencia de una catálisis alcalina de la oxidación de madera y lignina aumenta considerablemente si al medio de reacción acuoso se le adiciona un disolvente orgánico, por ejemplo DMSO, acetona, etanol. Los autores indican además que a valores pH superiores a 11 tiene lugar

un aumento pronunciado de la oxidación de la madera y la lignina.

Por el documento WO 01/059204 se conoce un proceso para producir celulosa en el cual el material inicial se
5 somete a un tratamiento preliminar en el cual el material se trata con una solución de regulador y un catalizador de deslignificado (metal de transición). El deslignificado se lleva a cabo en la presencia de oxígeno, peróxido de hidrógeno u ozono.

10 En comparación con lo anterior, el método de conformidad con la invención para producir productos de escisión de carbohidratos, en particular azúcares se caracteriza porque

- el material lignocelulósico se trata con una
15 solución acuosa que contiene peróxido de hidrógeno, un alcohol, en particular un alcohol C_{1-4} o un fenol, y una base, para escindir la lignocelulosa de manera oxidante y separar del material los productos de escisión, siendo que se obtiene un material con concentración de celulosa y hemicelulosa, y

20 - el material con concentración de celulosa y hemicelulosa que se obtiene se trata con un enzima que escinde carbohidratos para obtener los productos de escisión de carbohidratos.

Como alcohol son adecuados los alcoholes o fenoles
25 alifáticos o cicloalifáticos mono o polivalentes, por ejemplo

alcoholes C_{1-6} , en particular alcohol C_{1-4} , como metanol, etanol, propanol y butanol, incluidos sus isómeros; glicoles (etandioles, propandioles, butandioles, pentandioles, hexandioles), glicerina, propenol, butenol, ciclopentanol, 5 ciclohexanol, alcohol bencílico; o fenoles, como fenoles, cresoles, catecoles, naftoles, pero también aminoalcoholes como etanolamina, metanolamina y hexanolamina. Se prefiere un alcohol C_{1-4} . Para los fines de la presente solicitud de patente, en el concepto genérico "alcohol" se incluyen los 10 fenoles.

La solución alcohólica del extracto de lignina proporciona además opciones favorables en la preparación ulterior de los productos de escisión de lignina y xilano.

El peróxido de hidrógeno preferiblemente se 15 encuentra presente en una solución alcohólica acuosa en una cantidad de 0.1 a 5% en peso, de manera particularmente preferida en una cantidad de 0.3 a 2% en peso, por ejemplo 0.3 a 1% en peso.

En el método de conformidad con la invención el 20 alcohol preferiblemente se encuentra presente en una solución acuosa en una cantidad de 10 a 70% en volumen, por ejemplo 20 a 50% en volumen, preferentemente 30 a 40% en volumen.

En el método de conformidad con la invención el material de lignocelulosa preferiblemente está presente en la 25 solución acuosa con una densidad material de 3-40% en peso,

como 5-40% en peso, en particular 5-20% en peso.

Preferiblemente la lignocelulosa se escinde a una temperatura inferior a 100°C, como inferior a 80°C, por ejemplo inferior a 60°C.

5 La presente invención se basa por una parte en el conocimiento de que un material de lignocelulosa tratado con una solución acuosa básica de peróxido de hidrógeno que contiene uno de los alcoholes precedentemente mencionados, en particular un alcohol C_{1-4} o un fenol, se puede procesar de
10 manera enzimática con un mayor rendimiento de productos de escisión de carbohidratos como los azúcares que un material deslignificado de cualquier otra manera, en particular sin la adición de alcohol.

 Como productos de escisión de carbohidratos se
15 forman predominantemente azúcares, principalmente pentosas y hexosas. Los azúcares preferidos incluyen la xilosa y la glucosa.

 Una modalidad preferida del método de conformidad con la invención se caracteriza porque el material
20 concentrado con celulosa y hemicelulosa se trata con una xilanasa o una celulasa para obtener los azúcares.

 Como material de lignocelulosa se usa de preferencia paja, pastos energéticos, como por ejemplo férula (*Panicum virgatum*), banano de filipinas o abacá (*Saccharum*
25 *ravennae*), sisal, bagazo, o sustratos de lignocelulosa

atípicos, como glumas, por ejemplo glumas de arroz, preferiblemente paja, pastos energéticos, bagazos o glumas, de manera particularmente preferida paja o bagazo, por ejemplo paja. La paja tiene una superficie intensamente

5 hidrófoba, de manera que la humectación con soluciones acuosas constituye un problema. Se comprobó que mediante el uso de alcohol es posible introducir la solución reactiva en los poros del sustrato, incluso sin presión, y sustituir el

aire existente con solución reactiva. Se comprobó además que

10 el alcohol acelera la extracción de los productos de escisión de la paja y contribuye a mantener en solución los productos de escisión de la lignina. En contraste con esto se descubrió también que mediante el alcohol se disminuye la solubilidad de la hemicelulosa y de sus productos de escisión, y por

15 consiguiente la hemicelulosa se conserva en el sustrato. Si con la paja se introdujeran iones metálicos que destruyen parcialmente el peróxido de hidrógeno, entonces se debiera adicionar un formador de complejo para los iones metálicos.

Una variante preferida del método de conformidad

20 con la invención consiste en que el valor pH de la solución acuosa es inferior a 12.0, en particular inferior a 11.0 y superior a 10.0 previamente al tratamiento del material de lignocelulosa; además de que durante el tratamiento no se adiciona una base. Esto es favorable en particular para el

25 procesamiento ulterior enzimático de los azúcares a alcohol

en virtud de que se demostró que el valor pH disminuye durante el tratamiento, de manera que solamente se requieren pocos productos químicos para ajustar el valor pH óptimo para la subsiguiente escisión enzimática de los carbohidratos y fermentación de los azúcares a alcohol.

Mediante el exprimido de la fase líquida del sustrato después del proceso de disgregación se aumenta la concentración del sustrato, de manera que se requieren menores cantidades de enzima para la hidrólisis enzimática o en otros procesos enzimáticos ulteriores.

En la producción de alcohol los costos de los enzimas son un factor de costo decisivo. El alcohol provoca que se reduzca considerablemente la solubilidad de las hemicelulosas y sus productos de escisión que eventualmente se liberan adicionalmente a la lignina en el intervalo alcalino durante la reacción, y estas se mantienen ligadas al sustrato. Las ventajas para el proceso son una elevada selectividad de la disgregación de lignina, una muy baja concentración de hemicelulosa y sus productos de escisión en la solución extractora en el caso de separar la solución extractora del sólido, puesto que la hemicelulosa se conserva en la porción sólida y mediante ello para la hidrólisis enzimática y la obtención de azúcar.

La solución alcohólica del extracto de lignina proporciona además posibilidades mejoradas en lo referente a

la preparación ulterior de la lignina y la producción de productos de lignina.

Mediante el deslignificado que se lleva a cabo con la disgregación se aumenta la porosidad de las paredes celulares del material de lignocelulosa, por ejemplo en el caso de la paja tanto así que se vuelve accesible casi toda la xilosa para la xilanasa y se pueden hidrolizar aproximadamente 100% del xilano y obtener xilosa. Esto hace que el método de conformidad con la presente invención sea particularmente adecuado para producir productos de alta calidad en cooperación con una conversión enzimática de la xilosa. La conversión enzimática se puede efectuar o bien directamente en la mezcla de solución de xilosa y sólido o con la solución de xilosa separada del sólido.

En una producción de alcohol adicional a partir del sólido remanente que se efectúa después de la hidrólisis enzimática del xilano y la transformación de conformidad con la invención de la xilosa en xilitol los costos del enzima son un factor de costo decisivo. Estos resultan en parte también por los enlaces no específicos de enzimas a la lignina, ver por ejemplo Chandra et al, 2007, ibidem. La eliminación parcial de la lignina reduce esta pérdida de actividad y tiene efectos económicos favorables.

Las ventajas para un proceso enzimático subsiguiente son por ejemplo que debido a la elevada

17

selectividad de la disgregación de lignina con conservación casi completa de los polímeros de azúcar resulta una concentración muy reducida de la hemicelulosa y sus productos de escisión en la solución extractora, la hemicelulosa
5 permanece en la porción sólida y mediante ello se conserva para la hidrólisis enzimática y obtención de azúcar así como para su transformación adicional. De conformidad con la invención resulta de esto una cuota máxima de aprovechamiento de material y, por ejemplo en cooperación con el uso de
10 xilosadeshidrogenasas, una elevada rentabilidad del proceso descrito.

La conducción del proceso de transformación de xilosa en xilitol se puede llevar a cabo directamente en la mezcla de sólido/líquido que se obtiene de acuerdo al
15 presente método de conformidad con la invención después de la liberación enzimática de la xilosa, lo cual aumenta adicionalmente la rentabilidad de todo el proceso.

En el caso de la transformación en xilitol es posible que el alcohol residual del proceso de disgregación
20 remanente en el sustrato después de exprimir el sólido se use directamente como sustrato para la alcoholdehydrogenasa para la regeneración de NAD a NADH. Si el proceso se diseña de para que se consuma (parcialmente) el alcohol residual de la disgregación remanente en la mezcla reactiva resulta
25 (parcialmente) superflua una eliminación del alcohol de la

solución de producto y mediante ello se aumenta adicionalmente la eficiencia de todo el proceso.

En el caso de la transformación de los productos de escisión de lignina el alcohol actúa como eliminador de radicales y disolvente para los productos de escisión de una despolimerización enzimática, biomimética o química de los productos de escisión de lignina de moleculares superiores a moleculares inferiores.

La baja porción de hemicelulosa y sus productos de escisión en el extracto y la mayor solubilidad de la lignina aumentan las cuotas de rendimiento con una separación del sólido de los productos de transformación y su preparación mediante filtración.

El método de conformidad con la invención permite, por ejemplo, separar los tres componentes principales de la paja, específicamente la glucosa, la xilosa así como la lignina en flujos de material muy deficientes en sustancias perjudiciales y su transformación ulterior en productos de alta calidad, como xilitol, y por consiguiente satisface los requisitos de un proceso de biorefinación ideal.

Otra ventaja del método de conformidad con la invención en comparación con otros métodos de disgregación que se desarrollan predominantemente en el intervalo de temperatura entre 150°C y 200°C es que es posible mantener una temperatura de reacción inferior a 100°C. El bajo gasto

de energía permite que la lignina obtenida con la disgregación no se use como fuente de energía para el proceso de disgregación sino como material valioso.

Tras el tratamiento con la solución acuosa que
5 comprende un alcohol, en particular un alcohol C_{1-4} o un fenol y H_2O_2 , de acuerdo con el método de la presente invención la solución que comprende la lignina se separa y el sólido disgregado se trata preferiblemente con una xilanasas, por ejemplo 6-72 horas a 30-90°C y la fase líquida se separa del
10 sólido, tras lo cual la fase líquida preferiblemente se sigue transformando en productos ulteriores, por ejemplo xilitol.

El sólido remanente después de la separación de la fase líquida se trata preferiblemente con celulasa, siendo que mediante fermentación adicional de la solución de
15 sólido/glucosa se pueden obtener etanol, butanol y otros productos de fermentación; o el sólido remanente se somete a una transformación térmica o termo-química de la sustancia y los productos producidos, tales como componentes de combustible, aditivos de combustible y/u otros productos
20 químicos, como por ejemplo fenoles se separan; o el sólido remanente se somete a una transformación microbiana de la sustancia por medio de bacterias, levaduras u hongos; o el sólido remanente se somete a una etapa de deslignificado adicional con el fin de obtener un material de fibra de
25 celulosa.

El sólido remanente se puede fermentar en una planta de biogas y seguir procesando para obtener biogas.

Uno de los productos ulteriores económicamente interesantes de la xilosa es el xilitol.

5 Las fuentes principales para obtener xilosa son lejías digestivas de la industria de la celulosa que contienen una multitud de productos de disgregación, principalmente de la lignina y la hemicelulosa, de manera que la xilosa se debe obtener primero mediante costosas etapas de
10 separación y depuración. Así, por ejemplo, B. H. Harms describe en "Willkommen in der natürlichen Welt von Lenzing, weltweit führend in der Cellulosefaser Technologie", congreso de otoño de la industria del papel austriaca, Frantschach (15.11.2007) la obtención de xilosa a partir de la lejía
15 espesa mediante filtración de gel, un método técnicamente muy complejo que usualmente no se usa para productos a granel. Luego la xilosa obtenida de esta manera se transforma en forma catalítica en xilitol.

En un aspecto adicional, la xilosa obtenida de
20 conformidad con la presente invención se transforma en xilitol sin fermentación, mediante la transformación con una xilosareductasa, por ejemplo una xilosadeshidrogenasa, por ejemplo de *Candida tenuis*, siendo que opcionalmente a la solución de xilosa se adiciona una xilosareductasa y
25 opcionalmente un co-sustrato para la regeneración del

cofactor y opcionalmente alcoholdehidrogenasa y opcionalmente NAD(P)H; en particular, siendo que el xilitol obtenido se separa mediante filtración de los productos de escisión de lignina.

5 Con el siguiente ejemplo 1 y el ejemplo comparativo 1A se documenta la influencia del tratamiento preliminar en la presencia de alcohol sobre el rendimiento de azúcares reductores tras la hidrólisis enzimática.

Ejemplo 1

10 Tratamiento preliminar de paja de trigo

La paja de trigo se tritura a un tamaño de partícula de aproximadamente 2 cm. En un recipiente de reacción de 500 ml se suspenden 5 g de paja de trigo triturada en una solución que consiste de 49.5% de agua, 50%
15 de etanol y 0.5% de peróxido de hidrógeno. La suspensión se calienta a 50°C en el baño de agua, se termostatiza y el valor pH de la suspensión se ajusta con solución acuosa de NaOH en un valor pH inicial de 12. La mezcla se agita continuamente en forma magnética durante 24 horas a 200 rpm,
20 60°C. Tras esto la porción de sólidos se separa por filtración y se lava con 1 l de agua destilada.

Para la hidrólisis enzimática, 100 mg de sustrato pretratado de cada prueba paralela se ajustaron en pH 4.8 con 9.8 ml de regulador de acetato de sodio 50 mM y se mezclaron
25 con 200 µl de suspensión de acelerasa 1000

(www.genencor.com). La acelerasa es una mezcla de enzimas de celulasas y hemicelulasas. La hidrólisis enzimática se llevó a cabo a 50°C en un baño de agua agitado. Los monómeros solubles de hexosas y pentosas liberados después de 48 horas se determinaron en la forma de azúcares reductores de acuerdo al método DNS (Miller et al., Analytical Chemistry 31(3):426, 1959) en 1 ml del sobrenadante líquido, se refirieron a la cantidad neta de sustrato pretratado y se expresaron en por ciento del rendimiento teórico máximo.

El rendimiento teórico máximo de azúcares reductores se determinó por separado y es de 705 mg $\pm$ 5% por gramo de paja no tratada.

Por cada preparación de prueba se llevaron a cabo en cada caso 5 pruebas paralelas. El rendimiento en azúcares reductores fue de 99% $\pm$ 4%.

Ejemplo comparativo 1A

Se repitió el ejemplo 1 anterior, pero sin embargo sin adición de alcohol. El rendimiento en azúcares reductores solamente fue de 64% $\pm$ 3%.

Ejemplo 2

Ejemplo 2a

Producción enzimática de xilitol a partir de una solución de xilosa que se produjo de paja. Como co-sustrato se utiliza isopropanol.

La solución reactiva contiene 5 mg/ml de xilosa.

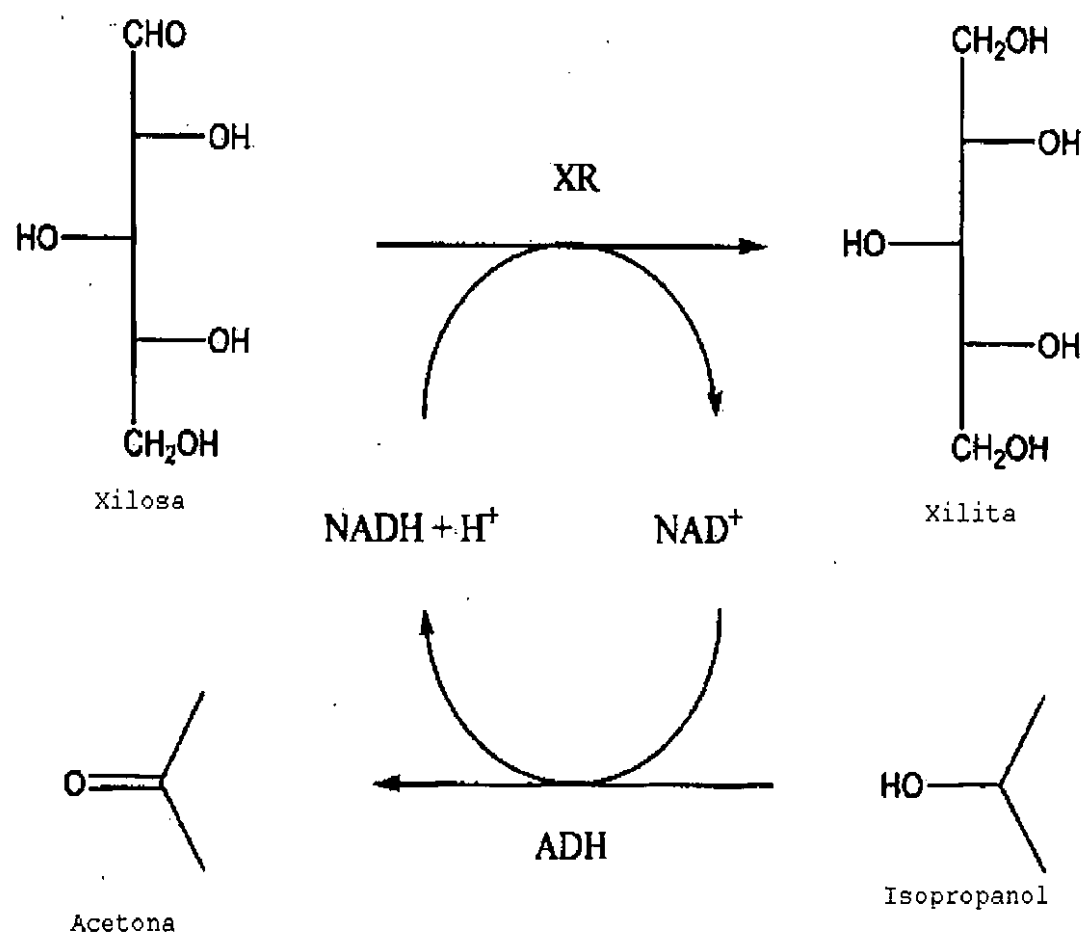
La xilosareductasa (XR) de *Candida tenuis* reduce la xilosa a xilitol. Esta XR necesita NADH (dinucleótido de nicotinamida-adenina) como coenzima, el cual durante la reacción se oxida para dar el coenzima NAD⁺. La regeneración del cofactor oxidado tiene lugar mediante la actividad paralela de una alcoholdehidrogenasa (ADH: regeneración acoplada por enzima). Como co-sustrato se usa isopropanol. El isopropanol y el NAD⁺ se transforman mediante el ADH en NADH y acetona, como se muestra en el esquema de reacción 1:

ESQUEMA DE REACCION 1

10

15

20



En la tabla 1 se representan las relaciones de reacción en las cinco diferentes reacciones de prueba #049,

25

#050, #051, #052, #053 y #054:

	Número de reacción	#049	#050	#052	#053	#054
5	Lote de sustrato I [μl]	250	250	250	500	500
	XR <i>C.tenuis</i> U/ml [μl]		50	50		50
	20 mM NADH [μl]		50	50		50
	ADH <i>L.kefir</i> 5 u/ml [μl]			50		50
	Isopropanol [μl]			50		50
10	50 mM de regulador de fosfato de sodio, pH 7.0 [μl]	750	650	550	500	300

Volumen total: 1 ml

Temperatura: $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$

Agitador magnético: 200 rpm

15 Tiempo: 15 horas.

Para desactivar los enzimas todas las pruebas se calentaron durante 15 minutos a 95°C y se centrifugaron en preparación para el subsiguiente análisis HPLC.

Análisis HPLC:

20 Columna SUGAR SP0810 + columna preliminar SUGAR SP-G

Detector: detector de índice de refracción

Eluyente: H_2O desionizado

Flujo: 0.75 ml/min

Cantidad de prueba: 10 μl

25 Precisión de cuantificación HPLC: $\pm 10\%$

25

Tiempo de retención:

Xilosa: 13.97 min

Xilitol: 37.73 min

Isopropanol: 16.69 min

5 Acetona: 16.54 min

Resultados

La concentración del sustrato de la prueba #049 se determinó mediante HPLC y se encontró en 0.9 mg/ml.

La mezcla reactiva #050 solamente comprende
10 xilosareductasa (0.1 U/ml) y NADH (1 mM). Después de la
reacción que dura 15 horas se consumieron 0.085 mg de xilosa.
La concentración de xilitol se encontraba debajo del límite
de detección.

La reacción #052 es comparable con la reacción
15 #050, pero sin embargo con la diferencia de que en este caso
se utiliza el sistema de regeneración. Se produce la
transformación total de la xilosa utilizada. Concentraciones
utilizadas: XR (0.1 U/ml), NADH (1 mM), ADH (0.25 U/ml) e
isopropanol (5%).

20 La concentración de xilosa de la prueba #053 se
determinó con 2.121 mg/ml, lo cual corresponde a la
concentración de xilosa esperada.

La reacción #054 es comparable con la reacción
#052, pero sin embargo tiene una concentración inicial de
25 xilosa aumentada por un factor de 2 (50% de sustratos en la

reacción). La concentración del xilitol producido se midió con 0.945 mg de xilitol. Concentraciones utilizadas: XR (0.1 U/ml), NADH (1 mM), ADH (0.25 U/ml) e isopropanol (5%).

5 En la tabla 2 se compilan los resultados de las reacciones con base en los datos de medición HPLC (xilosa consumida y xilitol obtenido; u.D.L. significa "por debajo

10

Número de reacción	049	050	052	053	054
Xilosa antes de la reacción [mg/ml]	0.9	0.815	0.8	2.121	1.945
Xilosa después de la reacción [mg/ml]	-	0.815	u.D.L.	-	1.013
Xilosa consumida en la reacción [mg/ml]	-	u.D.L.		-	0.932
Obtención de xilitol [mg/ml]	-	u.D.L.	0.994	-	0.945
Rendimiento de xilitol con relación a la concentración de xilosa [%]	-	u.D.L.	100	-	47.9

25

28

Ejemplo 2b

Producción enzimática de xilitol a partir de una solución de xilosa que se produjo de paja. Como co-sustrato se utiliza etanol.

5 El volumen de la solución de sustrato se redujo a 50% (compárese el ejemplo 2) mediante un evaporador rotatorio para aumentar la concentración de xilosa (~ 10 mg/ml de xilosa).

La regeneración del cofactor oxidado se efectuó
10 mediante la actividad de la xilosareductasa (XR) de *Candida tenius* utilizada y la actividad adicional de una aldehidodeshidrogenasa de *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma-Aldrich: número de catálogo A6338; número (EC): 1.2.1.5; número CAS: 9028-88-0) utilizada. En este caso se trata tanto
15 de una reacción acoplada a sustrato como también de una reacción acoplada a enzima. Como cosustrato se usa etanol. En el primer paso el etanol y NAD^+ se transforman en NADH y acetaldehído mediante la actividad de la XR. En el segundo paso el acetaldehído y NAD^+ se transforman en acetato
20 mediante la actividad de la aldehidodeshidrogenasa (AldDH) (compárese con respecto a esto Sigma-Aldrich; número de catálogo A6338; y "Characterization and Potential Roles of Cytosolic and Mitochondrial Aldehyde Dehydrogenases in Ethanol Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*", Wang et al,
25 Molecular Cloning, 1998, Journal of Bacteriology, página 822-

830). Por mol de cosustrato transformado se producirían en este caso 2 mol de equivalentes de reducción (NADH) (compárese esquema de reacción 2).

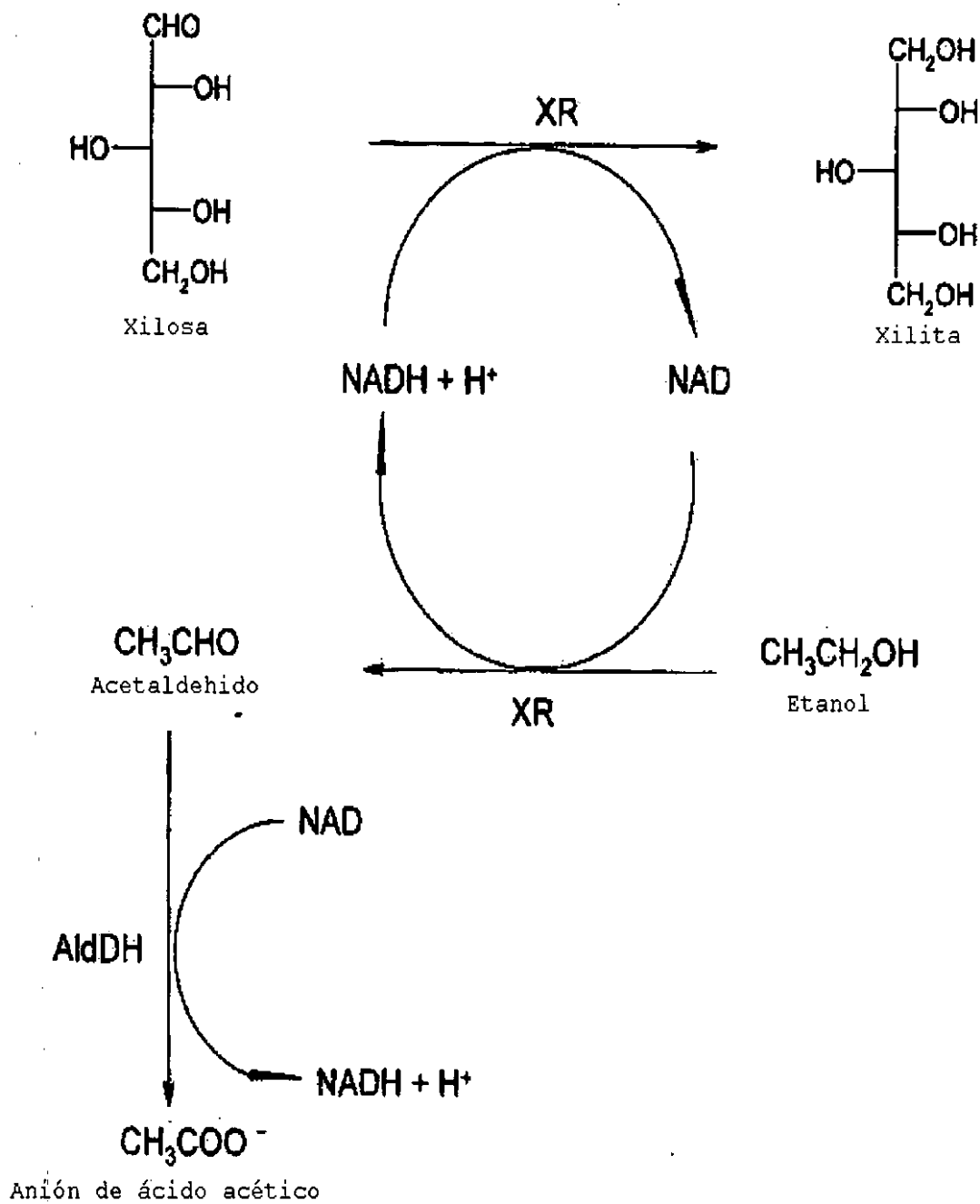
ESQUEMA DE REACCION 2

5

10

15

20



En la tabla 3 se representan las condiciones de reacción de las cuatro diferentes reacciones de prueba 247, 249, 250 y 253. Se utilizaron diferentes concentraciones de

etanol y de AldDH. Las concentraciones de cofactor y sustrato se mantuvieron constantes.

5	Número de reacción	247	249	250	253
	Lote de sustrato III [μl]	300 (56 mM)	300 (56 mM)	300 (56 mM)	300 (56 mM)
	XR <i>C. tenuis</i> 5U/ml [μl]	25 (0.25Uml)	25 (0.25Uml)	25 (0.25Uml)	25 (0.25Uml)
10	20 mM NAD ⁺ [μl]	10 (0.4 Mm)	10 (0.4 Mm)	10 (0.4 Mm)	10 (0.4 Mm)
15	AldDII <i>S.cervisiae</i> 5U/ml [μl]	25 (0.25Uml)	25 (0.25Uml)	0	0
	Etanol 50% [μl]	75 (1286 mM)	70 (1200 mM)	75 (1286 mM)	70 (1200 mM)
	50 mM regulador TrisHCl pH 7.0 [μl]	65	70	90	95

20 Volumen total: 0.5 ml

Temperatura: 25 ± 2°C

Termomezclador: 500 rpm

Tiempo: 112 horas

Para la desactivación de los enzimas todas las
25 pruebas se calientan durante 15 minutos a 70°C y se

centrifugan y filtran como preparación para el análisis HPLC subsiguiente (PVDF; 0.2 µm).

Análisis HPLC:

Columna SUGAR SP0810 + columna preliminar SUGAR SP-G

5 Temperatura de columna: 90°C

Detector: detector de índice de refracción

Eluyente: H₂O desionizado

Flujo: 0.90 ml/min

Cantidad de prueba: 10 µl

10 Precisión de cuantificación HPLC: ± 10%

Resultados:

El rendimiento máximo (reacción 249) se pudo obtener con una concentración de etanol de 1.2 mol/l. Se produjeron en total 1.38 mg/ml de xilitol, lo cual
15 corresponde a un rendimiento de xilitol de 21.2% del teórico.

20

25

Número de reacción	247	249	250	253
Concentración teórica total [mg/ml]	6.288	6.407	6.268	6.150
Xilosa tras la reacción [mg/ml]	5.057	5.046	5.385	5.365
Xilosa consumida en la reacción [mg/ml]	1.231	1.361	0.883	0.785
Obtención de xilitol [mg/ml]	1.248	1.379	0.894	0.796

Por los resultados se podrá apreciar que es posible utilizar etanol como cosustrato. Como se puede demostrar de manera inequívoca mediante la comparación de la reacción 249 (la mezcla reactiva comprende AldDH) y 253 (mezcla reactiva sin AldDH), la adición de aldehydeshidrogenasa conduce a un notable aumento del rendimiento de xilitol. La diferencia de xilosa transformada en xilitol es de ~ 8%. Este resultado en combinación con las citas de la bibliografía precedentemente mencionadas solamente permite la conclusión de que el AldDH oxida adicionalmente el acetaldehído que se produce en la primera reducción parcial para dar ácido acético (compárese esquema de reacción 2). Esta reacción energéticamente favorable y la mayor concentración de NADH que conlleva desplaza el equilibrio del reactivo en dirección del producto xilitol en la primera reacción parcial.

REIVINDICACIONES

1. Método para producir productos de escisión de carbohidratos, en particular azúcares, que comprende la combinación de las medidas caracterizado porque comprende:

5 tratar material de lignocelulosa con una solución acuosa que comprende peróxido de hidrógeno, un alcohol, particularmente un alcohol C1-4 o un fenol y una base, para escindir la lignocelulosa de manera oxidante y separar del material los productos de escisión, con lo que se obtiene un material

10 concentrado con celulosa y hemicelulosa, y - tratar el material concentrado con celulosa y hemicelulosa con un enzima que escinde carbohidratos para obtener productos de escisión de carbohidratos.

2. Método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la escisión se lleva a cabo a una

15 temperatura inferior a 100°C.

3. Método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque previamente al tratamiento del material de lignocelulosa la solución acuosa

20 tiene un valor pH que es superior a 10.0 e inferior a 12.0, en particular inferior a 11.0.

4. Método de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque durante el tratamiento no se adiciona una base.

25 5. Método de conformidad con cualquiera de las

reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque como material de lignocelulosa se usa paja, bagazo, pastos energéticos y/o desechos de madera.

6. Método de conformidad con cualquiera de las
5 reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque el material de lignocelulosa se encuentra presente en la solución acuosa con una densidad material de 5-40%.

7. Método de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el material
10 concentrado con celulosa y hemicelulosa se trata con una xilanasa y/o una celulasa para obtener los azúcares.

8. Método de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque los azúcares
obtenidos se fermentan a alcohol, el cual se separa y se
15 obtiene.

9. Método de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque el sólido
disgregado tras el tratamiento se transforma con una
xilanasa, y la fase líquida que se obtiene se transforma en
20 xilitol, y el sólido remanente - se transforma adicionalmente
con celulosa para obtener diferentes productos de
fermentación; o - se somete a una transformación térmica o
termoquímica del material; o - se somete a una transformación
microbiana del material mediante bacterias, levaduras u
25 hongos; o - se somete a una etapa de deslignificado adicional

con el fin de obtener un material de fibras de celulosa.

10. Método de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado porque tras el tratamiento, el sólido disgregado se transforma con una xilanasa y la fase líquida
5 obtenida se transforma en xilitol mediante una xilosadeshidrogenasa, y el sólido remanente; - se transforma adicionalmente con celulosa para obtener diversos productos de fermentación; o - se somete a una transformación térmica o
termoquímica del material; o - se somete a una transformación
10 microbiana del material mediante bacterias, levaduras u hongos; o - se somete a una etapa de deslignificado adicional con el fin de obtener un material de fibra de celulosa.

11. Método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 9 u 10, caracterizado porque tras la
15 separación de los productos (de fermentación) el sólido remanente se fermenta en una instalación de biogas y se procesa para obtener biogas.

33

RESUMEN DE LA INVENCION

La invención se refiere a un método para producir productos de escisión de carbohidratos, caracterizado por una combinación de las siguientes medidas: se trata material de lignocelulosa con una solución acuosa que contiene peróxido de hidrógeno, un alcohol, en particular alcohol C1-4 o un fenol, y una base, con el fin de escindir lignocelulosa de manera oxidante y separar los productos de escisión del material. De conformidad con la invención se obtiene un material concentrado con celulosa y hemicelulosa, y el material obtenido que está concentrado con celulosa y hemicelulosa se trata con un enzima que escinde carbohidratos con el fin de obtener los productos de escisión de carbohidratos.

15

20

36

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/AT2010/000137

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C12P7/10 C12P7/18 C12P19/14
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 D21C

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, WPI Data, COMPENDEX, FSTA, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GOULD, J.M.: "Alkaline Peroxide Delignification of Agricultural Residues to Enhance Enzymatic Saccharification", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, vol. 26, no. 1, 1984, pages 46-52, XP002634243, abstract page 46, column 2, line 36 - page 50, column 1, line 19; figures 1-5; tables I-III page 50, column 2, line 16 - page 51, column 2, line 32 ----- -/--	1-11

☒ 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.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 April 2011

Date of mailing of the international search report

10/05/2011

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

Fuchs, Ulrike

37

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/AT2010/000137

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GOULD, J.M. & FREER, S.N.: "High-Efficiency Ethanol Production from Lignocellulosic Residues Pretreated with Alkaline H2O2", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, vol. 26, no. 6, 1984, pages 628-631, XP002634244, the whole document	1-11
A	CHUPKA, E.I. ET AL.: "Oxidation of wood and its components in water-organic media", PROCEEDINGS / SEVENTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON WOOD AND PULPING CHEMISTRY, BEIJING, P.R. CHINA, MAY 25 - 28, 1993 IN COLLABORATION WITH 1993 SYMPOSIUM ON CELLULOSE AND LIGNOCELLULOSICS CHEMISTRY, BEIJING, P.R. CHINA, vol. 3, 25 May 1993 (1993-05-25), pages 373-382, XP008135252, cited in the application page 374, line 14 - page 378, line 15; figures 1, 2 page 379; figures 4, 5 page 380, line 28 - page 382, line 7	1-11
A	US 2004/163779 A1 (PAN, G.) 26 August 2004 (2004-08-26) the whole document siehe insbesondere: page 2, column 1, paragraph 19	1-11
A	JEFFRIES, T.W.: "Enzymatic removal and utilization of hemicellulose from pulps; paper pulping; xylan saccharification using endo-1,4-beta-D-xylanase from Aureobasidium pullulans; xylitol and ethanol preparation using Candida shehatae", BIOTECHABS, 1990, XP002633341, abstract	1-11

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/AT2010/000137

A. KLASSTIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES		
INV.	C12P7/10	C12P7/18 C12P19/14
ADD.		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)		
C12P D21C		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
EPO-Internal, WPI Data, COMPENDEX, FSTA, BIOSIS, EMBASE		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GOULD, J.M.: "Alkaline Peroxide Delignification of Agricultural Residues to Enhance Enzymatic Saccharification", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, Bd. 26, Nr. 1, 1984, Seiten 46-52, XP002634243, Zusammenfassung Seite 46, Spalte 2, Zeile 36 - Seite 50, Spalte 1, Zeile 19; Abbildungen 1-5; Tabellen I-III Seite 50, Spalte 2, Zeile 16 - Seite 51, Spalte 2, Zeile 32 ----- -/--	1-11
☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen ☒ Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
27. April 2011		10/05/2011
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Fuchs, Ulrike

40

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/AT2010/000137

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GOULD, J.M. & FREER, S.N.: "High-Efficiency Ethanol Production from Lignocellulosic Residues Pretreated with Alkaline H2O2", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, Bd. 26, Nr. 6, 1984, Seiten 628-631, XP002634244, das ganze Dokument -----	1-11
A	CHUPKA, E.I. ET AL.: "Oxidation of wood and its components in water-organic media", PROCEEDINGS / SEVENTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON WOOD AND PULPING CHEMISTRY, BEIJING, P.R. CHINA, MAY 25 - 28, 1993 IN COLLABORATION WITH 1993 SYMPOSIUM ON CELLULOSE AND LIGNOCELLULOSICS CHEMISTRY, BEIJING, P.R. CHINA, Bd. 3, 25. Mai 1993 (1993-05-25), Seiten 373-382, XP008135252, in der Anmeldung erwähnt Seite 374, Zeile 14 - Seite 378, Zeile 15; Abbildungen 1, 2 Seite 379; Abbildungen 4, 5 Seite 380, Zeile 28 - Seite 382, Zeile 7 -----	1-11
A	US 2004/163779 A1 (PAN, G.) 26. August 2004 (2004-08-26) das ganze Dokument siehe insbesondere: Seite 2, Spalte 1, Absatz 19 -----	1-11
A	JEFFRIES, T.W.: "Enzymatic removal and utilization of hemicellulose from pulps; paper pulping; xylan saccharification using endo-1,4-beta-D-xylanase from Aureobasidium pullulans; xylitol and ethanol preparation using Candida shehatae", BIOTECHABS, 1990, XP002633341, Zusammenfassung -----	1-11

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

PCT/AT2010/000137

Im Recherchebericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 2004163779 A1	26-08-2004	CA 2457820 A1	21-08-2004

42

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

(Kapitel II des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts A 13696	WEITERES VORGEHEN siehe Formblatt PCT/PEA416	
Internationales Aktenzeichen PCT/AT2010/000137	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 30.04.2010	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 30.04.2009 --
Internationale Patentklassifikation (IPC) oder nationale Klassifikation und IPC INV. C12P7/10		
Anmelder Annikki GmbH		
1. Bei diesem Bericht handelt es sich um den internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, der von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde nach Artikel 35 erstellt wurde und dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt wird. 2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt <u>9</u> Blätter einschließlich dieses Deckblatts. 3. Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; diese umfassen a. ☒ (an den Anmelder und das Internationale Büro gesandt) insgesamt <u>5</u> Blätter; dabei handelt es sich um ☒ Blätter mit der Beschreibung, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden, und/oder Blätter mit Berichtigungen, denen die Behörde zugestimmt hat, sofern diese Blätter nicht überholt sind oder fortfallen, sowie etwaige Begleitschreiben (siehe Regeln 46.5, 66.8, 70.16, 91.2 und Abschnitt 607 der Verwaltungsvorschriften). ☐ Blätter mit Berichtigungen, die laut Entscheidung der Behörde nicht berücksichtigt werden, weil bis zu dem Zeitpunkt, zu dem die Behörde mit der Erstellung des Berichts begonnen hat, keine Zustimmung ihrerseits zu den Berichtigungen bzw. keine Mitteilung der Berichtigungen an die Behörde erfolgt ist, sowie etwaige Begleitschreiben (Regeln 66.4bis, 70.2 e), 70.16 und 91.2). ☐ überholte Blätter und etwaige Begleitschreiben, wenn nach Auffassung der Behörde entweder die späteren Blätter eine Änderung enthalten, die über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgeht, oder den späteren Blättern kein Begleitschreiben beigelegt war, das die Grundlage für die Änderungen in der ursprünglich eingereichten Anmeldung angibt, wie in Feld Nr. 1, Punkt 4 und im Zusatzfeld angegeben (siehe Regel 70.16 b)). b. ☐ (nur an das Internationale Büro gesandt) insgesamt (bitte Art und Anzahl der/des elektronischen Datenträger(s) angeben) , der/die ein Sequenzprotokoll enthält/enthalten, nur in elektronischer Form, wie im Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll angegeben (siehe Ziffer 3bis des Anhangs C zu den Verwaltungsvorschriften).		
4. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten: ☒ Feld Nr. I Grundlage des Berichts ☐ Feld Nr. II Priorität ☐ Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit ☐ Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung ☒ Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung ☐ Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen ☐ Feld Nr. VII Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung ☐ Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung		
Datum der Einreichung des Antrags	Datum der Fertigstellung dieses Berichts	
09.08.2011	29.08.2011	
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde	Bevollmächtigter Bediensteter	
 Europäisches Patentamt Gitschiner Str. 103 D-10958 Berlin Tel. +49 30 25901 - 0 Fax: +49 30 25901 - 840	Fuchs, Ulrike Tel. +49 30 25901-321 	

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

Internationales Aktenzeichen
PCT/AT2010/000137

Feld Nr. 1 Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der Sprache beruht der Bescheid auf

- ☒ der internationalen Anmeldung in der Sprache, in der sie eingereicht wurde.
- ☐ einer Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache, bei der es sich um die Sprache der Übersetzung handelt, die für folgenden Zweck eingereicht worden ist:
- ☐ internationale Recherche (nach Regeln 12.3 a) und 23.1 b))
 - ☐ Veröffentlichung der internationalen Anmeldung (nach Regel 12.4 a))
 - ☐ Internationale vorläufige Prüfung (nach Regeln 55.2 a) und/oder 55.3 a) und b))

2. Hinsichtlich der Bestandteile* der internationalen Anmeldung beruht der Bericht auf *(Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt):*

Beschreibung, Seiten

1-17 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-11 eingereicht am 09-08-2011 mit Telefax

- ☐ eines Sequenzprotokolls - siehe Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll.

3. ☐ Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung: Seite
- ☐ Ansprüche: Nr.
- ☐ Zeichnungen: Blatt/Abb.
- ☐ Sequenzprotokoll (*genaue Angaben*):
- ☐ etwaige zum Sequenzprotokoll gehörende Tabellen (*genaue Angaben*):

4. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der diesem Bericht beigelegten und nachstehend aufgelisteten Änderungen erstellt worden, da diese aus den im Zusatzfeld angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen oder laut Angabe im Zusatzfeld kein Begleitschreiben beigelegt war, in dem die Grundlage für die Änderung in der ursprünglich eingereichten Anmeldung angegeben war (Regel 70.2 c) und c-bis)).

- ☐ Beschreibung: Seite
- ☐ Ansprüche: Nr.
- ☐ Zeichnungen: Blatt/Abb.
- ☐ Sequenzprotokoll (*genaue Angaben*):

5. ☐ Dieser Bericht wurde erstellt:

- ☐ unter Berücksichtigung der Berichtigung eines offensichtlichen Fehlers, die nach Regel 91 von dieser Behörde genehmigt wurde bzw. dieser Behörde mitgeteilt wurde (Regeln 66.1 d-bis) und 70.2 e)).
- ☐ ohne Berücksichtigung der Berichtigung eines offensichtlichen Fehlers, die nach Regel 91 von dieser Behörde genehmigt wurde bzw. dieser Behörde mitgeteilt wurde (Regeln 66.4bis) und 70.2 e)).

6. ☐ Bei der Erstellung dieses Berichts wurde der ergänzende internationale Recherchenbericht/wurden die ergänzenden internationalen Recherchenberichte der folgenden Behörde(n) berücksichtigt (Regel 45bis.8 b) und c)).

44
1

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT
ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT**

Internationales Aktenzeichen
PCT/AT2010/000137

Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Artikel 35 (2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche <u>1-11</u>
	Nein: Ansprüche
Erfinderische Tätigkeit (IS)	Ja: Ansprüche <u>1-11</u>
	Nein: Ansprüche
Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)	Ja: Ansprüche: <u>1-11</u>
	Nein: Ansprüche:

2. Unterlagen und Erklärungen (Regel 70.7):

siehe Beiblatt

Zu Punkt V

**Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit
und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung
dieser Feststellung**

Der Prüfung wurden die geänderten Anmeldungsunterlagen sowie weitere durch den Anmeldervertreter vorgebrachte Argumente und zusätzliche Angaben und Beweismittel zugrunde gelegt.

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1 GOULD, J.M.: "Alkaline Peroxide Delignification of Agricultural Residues to Enhance Enzymatic Saccharification", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, Bd. 26, Nr. 1, 1984, Seiten 46-52, XP002634243
- D2 GOULD, J.M. & FREER, S.N.: "High-Efficiency Ethanol Production from Lignocellulosic Residues Pretreated with Alkaline H₂O₂", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, Bd. 26, Nr. 6, 1984, Seiten 628-631, XP002634244
- D3 CHUPKA, E.I. ET AL.: "Oxidation of wood and its components in water-organic media", PROCEEDINGS / SEVENTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON WOOD AND PULPING CHEMISTRY, BEIJING, P.R. CHINA, MAY 25 - 28, 1993 IN COLLABORATION WITH 1993 SYMPOSIUM ON CELLULOSE AND LIGNOCELLULOSICS CHEMISTRY, BEIJING, P.R. CHINA, Bd. 3, 25. Mai 1993, Seiten 373-382, XP008135252, in der Anmeldung erwähnt
- D4 US 2004/163779 A1 (PAN, G.), 26. August 2004
- D5 JEFFRIES, T.W.: "Enzymatic removal and utilization of hemicellulose from pulps; paper pulping; xylan saccharification using endo-1,4-beta-D-xylanase from *Aureobasidium pullulans*; xylitol and ethanol preparation using *Candida shehatae*", BIOTECHABS, 1990, XP002633341

1. Änderungen (Artikel 34(2)(b) PCT)

Der mit dem Telefax vom 09.08.2011 eingereichte neue **Anspruchssatz 1-11** ist zulässig, da er keine Sachverhalte einbringt, die über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgehen.

Der neue unabhängige **Anspruch 1** wurde auf ein Verfahren zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten beschränkt, bei dem das Lignocellulose enthaltende Material mit einer wässrigen Lösung, welche Wasserstoffperoxid, einen **C₁₋₄ Alkohol** und eine Base enthält, behandelt wird. Gestützt wird diese Änderung durch den Wortlaut des ursprünglichen Anspruchs 1 sowie durch die Beschreibung, Seite 3, Zeile 29 - Seite 4, Zeile 3.

2. Stellungnahme

2.1 Klarheit der Ansprüche. Ihre Stützung durch die Beschreibung (Artikel 6, Regel 6.3(a)(b) PCT)

2.1.1 Der im internationalen vorläufigen Bericht zur Patentfähigkeit gemäß PCT erhobene **Einwand 1.1** wegen mangelnder Klarheit der Ansprüche und mangelnder Stützung der Ansprüche durch die Beschreibung wurde in Hinsicht auf die Beschränkung des neuen Anspruchs 1 und in Hinsicht auf die durch den Anmeldervertreter vorgebrachten weiteren Argumente und zusätzlichen Angaben und Beweismittel ausgeräumt.

2.1.2 Der im internationalen vorläufigen Bericht zur Patentfähigkeit gemäß PCT erhobene **Einwand 2.1** wegen mangelnder Klarheit der Ansprüche bleibt aufrecht erhalten. Der Ausdruck "insbesondere" in den vorliegenden **Ansprüchen 1, 3** bewirkt keine Beschränkung des Schutzzumfangs der Ansprüche, verleiht den entsprechenden Merkmalen einen lediglich fakultativen Charakter und führt somit zu einer unklaren

Definition des angestrebten Schutzzumfangs. Eine derartige Formulierung der Ansprüche ist außerdem nicht knapp gefasst und widerspricht dem 2. Satz des Artikels 6 PCT.

2.2 Neuheit (Artikel 33(2) PCT)

D1 offenbart ein Verfahren zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten (siehe Zusammenfassung; Seite 46, Spalte 2, Zeile 36 - Seite 50, Spalte 1, Zeile 19, Abbildungen 1-5, Tabellen I-III; Seite 50, Spalte 2, Zeile 16 - Seite 51, Spalte 2, Zeile 32), gekennzeichnet durch die Kombination der Maßnahmen, dass

- Lignocellulose enthaltendes Material mit einer wässrigen Lösung, welche Wasserstoffperoxid und eine Base enthält, behandelt wird, um Lignocellulose oxidativ zu spalten und Spaltprodukte aus dem Material abzutrennen, wobei ein mit Cellulose angereichertes Material erhalten wird, und
- das erhaltene, mit Cellulose angereicherte Material mit einem Kohlenhydrat spaltenden Enzym behandelt wird, um die Kohlenhydratspaltprodukte zu gewinnen.

D2 offenbart ein ebensolches Verfahren, wobei die erhaltenen Zucker zu Alkohol vergoren werden, welcher abgetrennt und gewonnen wird (siehe das ganze Dokument).

D3 offenbart ein Verfahren zur oxidativen Spaltung von Lignocellulose (siehe Seite 374, Zeile 14 - Seite 378, Zeile 15, Abbildungen 1, 2; Seite 379, Abbildungen 4, 5; Seite 380, Zeile 28 - Seite 382, Zeile 7), gekennzeichnet durch die Maßnahme, dass

- Lignocellulose enthaltendes Material mit einer wässrigen Lösung, welche Wasserstoffperoxid, Ethanol und eine Base enthält, behandelt wird, um Lignocellulose oxidativ zu spalten und Spaltprodukte aus dem Material abzutrennen, wobei ein mit Cellulose und Hemicellulose angereichertes Material erhalten wird.

D4 offenbart ein Verfahren zum Bleichen von Zellstoff (siehe das ganze Dokument, insbesondere: Seite 2, Spalte 1, Absatz 19), gekennzeichnet durch die Maßnahme, dass

- Lignocellulose enthaltendes Material mit einer wässrigen Lösung, welche Wasserstoffperoxid, Ethanol und eine Base enthält, behandelt wird, um Lignocellulose oxidativ zu spalten und Spaltprodukte aus dem Material abzutrennen, wobei ein mit Cellulose und Hemicellulose angereichertes Material erhalten wird.

D5 offenbart ein Verfahren zur Herstellung von Xylose (siehe Zusammenfassung), gekennzeichnet durch die Kombination der Maßnahmen, dass

- Lignocellulose enthaltendes Material mit einer verdünnten alkalischen Lösung behandelt wird, und
- das erhaltene, mit Cellulose und Hemicellulose angereicherte Material mit Xylanase behandelt wird, um die Xylose zu gewinnen.

Keines dieser Dokumente offenbart jedoch ein Verfahren zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten, gekennzeichnet durch die Kombination der Maßnahmen, dass

- Lignocellulose enthaltendes Material mit einer wässrigen Lösung, welche Wasserstoffperoxid, einen C₁₋₄ Alkohol und eine Base enthält, behandelt wird, um Lignocellulose oxidativ zu spalten und Spaltprodukte aus dem Material abzutrennen, wobei ein mit Cellulose und Hemicellulose angereichertes Material erhalten wird, und
- das erhaltene mit Cellulose und Hemicellulose angereicherte Material mit einem Kohlenhydrat spaltenden Enzym behandelt wird, um die Kohlenhydratspaltprodukte zu gewinnen.

Der Gegenstand der **Ansprüche 1-11** ist somit neu.

2.3 Erfinderische Tätigkeit (Artikel 33(3) PCT)

Zur Beurteilung der erfinderischen Tätigkeit werden Dokumente D1-D4 als relevant betrachtet, wobei **D1** und **D2** den nächstliegenden Stand der Technik darstellen. Sie offenbaren ein Verfahren zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten, gekennzeichnet durch die Kombination der Maßnahmen, dass

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
BERICHT ZUR PATENTIERBARKEIT
(BEIBLATT)**

Internationales Aktenzeichen

PCT/AT2010/000137

- Lignocellulose enthaltendes Material mit einer wässrigen Lösung, welche Wasserstoffperoxid und eine Base enthält, behandelt wird, um Lignocellulose oxidativ zu spalten und Spaltprodukte aus dem Material abzutrennen, wobei ein mit Cellulose angereichertes Material erhalten wird, und
- das erhaltene, mit Cellulose angereicherte Material mit einem Kohlenhydrat spaltenden Enzym behandelt wird, um die Kohlenhydratspaltprodukte zu gewinnen (D1, D2),
- wobei die erhaltenen Zucker zu Alkohol vergoren werden, welcher abgetrennt und gewonnen wird (D2).

Der Gegenstand des Anspruchs 1 unterscheidet sich von den aus D1, D2 bekannten Verfahren dadurch, dass

- Lignocellulose enthaltendes Material mit einer wässrigen Lösung, welche neben Wasserstoffperoxid und einer Base **zusätzlich einen C₁₋₄ Alkohol** enthält, behandelt wird.

Der dadurch erzielte Effekt besteht darin, dass derart behandeltes Lignocellulose enthaltendes Material in höherer Ausbeute enzymatisch zu Kohlenhydratspaltprodukten umgesetzt werden kann.

Die mit der vorliegenden Erfindung zu lösende Aufgabe kann somit darin gesehen werden, ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten aus Lignocellulose enthaltendem Material bereitzustellen.

Die in der vorliegenden Anmeldung beschriebenen Beispiele Ausführungsbeispiel 1 und Vergleichsbeispiel 1A (Seite 10) zeigen, dass bei einem Verfahren zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten aus Lignocellulose enthaltendem Material die Ausbeute an reduzierenden Zuckern dadurch gesteigert werden kann, dass der wässrigen Lösung zur Behandlung des Lignocellulose enthaltenden Materials, welche Wasserstoffperoxid und NaOH enthält, wobei der Ausgangs-pH Wert auf 12 eingestellt wird, **Ethanol** zugesetzt wird.

Entsprechende zusätzlichen Angaben und Beweismittel bezüglich **Methanol** und **Isopropanol** wurden durch den Anmeldervertreter vorgelegt.

50

Somit erscheint es glaubhaft, dass die der Erfindung zugrunde liegende Aufgabe tatsächlich gelöst wurde.

Die im vorliegenden Anspruch 1 für diese Aufgabe vorgeschlagene Lösung wird aus folgenden Gründen als überraschend betrachtet:

Zwar ist der fachkundigen Person aus dem nächstliegenden Stand der Technik **D1**, **D2** bekannt, dass zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten

- Lignocellulose enthaltendes Material mit einer wässrigen Lösung, welche Wasserstoffperoxid und eine Base enthält, behandelt wird, um Lignocellulose oxidativ zu spalten und Spaltprodukte aus dem Material abzutrennen, wobei ein mit Cellulose angereichertes Material erhalten wird, und

- das erhaltene, mit Cellulose angereicherte Material mit einem Kohlenhydrat spaltenden Enzym behandelt wird, um die Kohlenhydratspaltprodukte zu gewinnen, einen Hinweis darauf, dass Lignocellulose enthaltendes Material, welches mit einer wässrigen Lösung, die **zusätzlich einen C₁₋₄ Alkohol** enthält, behandelt wird, in höherer Ausbeute enzymatisch zu Kohlenhydratspaltprodukten umgesetzt werden kann, erhält die fachkundige Person allerdings nicht.

Weiterhin ist der fachkundigen Person aus **D3**, **D4** zwar bekannt, dass zur oxidativen Spaltung von Lignocellulose

- Lignocellulose enthaltendes Material mit einer wässrigen Lösung, welche Wasserstoffperoxid, Ethanol und eine Base enthält, behandelt wird, um Lignocellulose oxidativ zu spalten und Spaltprodukte aus dem Material abzutrennen, wobei ein mit Cellulose und Hemicellulose angereichertes Material erhalten wird,

einen Hinweis darauf, dass derart behandeltes Lignocellulose enthaltendes Material in höherer Ausbeute enzymatisch zu Kohlenhydratspaltprodukten umgesetzt werden kann als Lignocellulose enthaltendes Material, welches ohne einen C₁₋₄ Alkohol behandelt wurde, erhält die fachkundige Person allerdings ebenfalls nicht.

Der Gegenstand der **Ansprüche 1-11** ist somit als auf einer erfinderischen Tätigkeit beruhend zu betrachten.

SCHWARZ & PARTNER
PATENTANWÄLTE
EUROPEAN PATENT AND TRADEMARK ATTORNEYS

DR. ALBIN SCHWARZ
DIPL.-ING. HARALD NEMEC
DIPL.-ING. HERWIG MARGOTTI
MAG. DR. ANDREAS VÖGELE
DIPL.-ING. HARALD RÖGGLA
DIPL.-ING. EVA BACHINGER-FUCHS

Vorab per Telefax

Europäisches Patentamt
Erhardtstrasse 27
D-80298 München

WIPLINGERSTRASSE 30
A-1010 WIEN

TEL: +43 1-533 18 50
FAX: +43 1-533 18 55
E-MAIL: OFFICE@KOPAS.AT

Wien, 7. August 2011

Unser Zeichen: A 13696/AS/em

Internationale Patentanmeldung PCT/AT2010/000137
„Verfahren zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten
aus einem lignocellulosischen Material“
Annikki GmbH et al.

Auf den schriftlichen Bescheid der internationalen Recherchenbehörde vom 10. Mai 2011:

Es wird ein Satz neuer Patentansprüche vorgelegt, der der Prüfung zugrundegelegt werden soll. Der Anspruch 1 wurde hinsichtlich des eingesetzten Alkohols beschränkt, Phenol wurde gestrichen.

Zum Abschnitt 1 („Klarheit der Ansprüche“):

Es ist zutreffend, dass die Ausführungsbeispiele die Verwendung von Ethanol dokumentieren. Es ist jedoch nicht zutreffend, dass dem Beschreibungsteil nicht entnommen werden kann, dass sich für das Verfahren nicht jeder C₁₋₄ Alkohol eignet. Diesbezüglich wird auf Seite 3, letzter Absatz verwiesen:

„Als Alkohol eignen sich insbesondere ein C₁₋₄ Alkohol, wie Methanol, Ethanol, Propanol und Butanol.....“

Die Anmelderin hat das Beispiel 1 auch mit Methanol (Lösung: 39,5% Wasser, 60% Methanol und 0,5% Wasserstoffperoxid) und Isopropanol (Lösung: 69,5% Wasser, 30% Isopropanol und 0,5% Wasserstoffperoxid) ausgeführt, wobei statt 5 g Weizenstroh (Beispiel 1) jeweils 10 g Weizenstroh eingesetzt wurden. Die Ergebnisse sind wie folgt:

Methanol: Die Ausbeute an reduzierenden Zuckern betrug 96% ±4%
Isopropanol: Die Ausbeute an reduzierenden Zuckern betrug 95% ±3%

Die amtlicherseits gemachten Einwände zu 1.1 und 1.2 sind somit ausgeräumt.

ERSTE ÖSTERR. SPARKASSE 030-45250, BLZ 20111
IBAN: AT722011100003045250, SWIFT (BIC): GIBAAATWW

UID-NR. (VAT) ATU 40328604

Zum Abschnitt 2 („Neuheit“):

Die Neuheit der eingeschränkten Ansprüche steht außer Zweifel, da die ursprünglich eingereichten Ansprüche bereits als neu anerkannt wurden.

Zum Abschnitt 3 („Erfinderische Tätigkeit“):

Die Anmelderin stimmt mit der Ansicht der Prüferin überein, dass die mit der vorliegenden Erfindung zu lösende Aufgabe darin gesehen werden kann, ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten aus Lignocellulose enthaltendem Material bereitzustellen.

Der neue Anspruch 1 ist nicht mehr auf jeden beliebigen Alkohol gerichtet und die Lösung der Aufgabe ist mit dem in der Anmeldung vorliegenden Beispiel sowie mit den oben angegebenen Beispielen gezeigt. Damit kann der Gegenstand des Schutzbegehrens als auf einer erfinderischen Tätigkeit beruhend angesehen werden.

Es wird gebeten, unter Berücksichtigung dieser Ausführungen einen positiven vorläufigen internationalen Prüfbericht herauszugeben.


Dr. Albin Schwarz
Patentanwalt
Schwarz & Partner
Zusammenschluss Nr. 358

Anlage

Patentansprüche (per Fax und Post)
Bestätigungskopie (rückerbeten)
mit Umschlag (nur per Post)
Telefonzettel (nur per Fax)

A 13696PCT/AT2010/000137**Patentansprüche**

1. Verfahren zur Herstellung von Kohlenhydratspaltprodukten, insbesondere Zuckern, gekennzeichnet durch die Kombination der Maßnahmen, dass
 - lignocellulosisches Material mit einer wässrigen Lösung, welche Wasserstoffperoxid, ~~keinen Alkohol, insbesondere einen C₁₋₄-Alkohol oder ein Phenol~~ und eine Base enthält, behandelt wird, um Lignocellulose oxidativ zu spalten und Spaltprodukte aus dem Material abzutrennen, wobei ein mit Cellulose und Hemicellulose angereichertes Material erhalten wird, und
 - das erhaltene mit Cellulose und Hemicellulose angereicherte Material mit einem Kohlenhydrat-spaltenden Enzym behandelt wird, um Kohlenhydratspaltprodukte zu gewinnen.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Spaltung, bei einer Temperatur von unter 100°C erfolgt.
3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die wässrige Lösung vor der Behandlung des lignocellulosischen Materials einen pH-Wert aufweist, der größer als 10,0 und kleiner als 12,0, insbesondere kleiner als 11,0 ist.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass während der Behandlung keine Base zugegeben wird.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass als lignocellulosisches Material Stroh, Bagasse, Energiegräser und/oder Spelzen eingesetzt wird.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das lignocellulosische Material in der wässrigen Lösung in einer Stoffdichte von 5-40 Gew.-% vorliegt.

54

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das mit Cellulose und Hemicellulose angereicherte Material mit einer Xylanase und/oder einer Cellulase behandelt wird, um die Zucker zu gewinnen.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die erhaltenen Zucker zu Alkohol vergoren werden, welcher abgetrennt und gewonnen wird.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass der nach der Behandlung aufgeschlossene Feststoff mit einer Xylanase umgesetzt und die erhaltene Flüssigphase zu Xylitol umgesetzt wird, und der verbleibende Feststoff
 - weiter mit Cellulase zum Erhalt verschiedener Fermentationsprodukte umgesetzt wird;
 - oder
 - einer thermischen oder thermochemischen Stoffumwandlung unterzogen wird;
 - oder
 - einer mikrobiellen Stoffumwandlung durch Bakterien, Hefen oder Pilze unterzogen wird;
 - oder
 - einem weiteren Delignifizierungsschritt zum Zwecke der Gewinnung eines Cellulose-Fasermaterials unterzogen wird.
10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass der nach der Behandlung aufgeschlossene Feststoff mit einer Xylanase umgesetzt und die erhaltene Flüssigphase mittels einer Xylose Dehydrogenase zu Xylitol umgesetzt wird, und der verbleibende Feststoff
 - weiter mit Cellulase zum Erhalt verschiedener Fermentationsprodukte umgesetzt wird;
 - oder
 - einer thermischen oder thermochemischen Stoffumwandlung unterzogen wird;
 - oder
 - einer mikrobiellen Stoffumwandlung durch Bakterien, Hefen oder Pilze unterzogen wird;
 - oder

- einem weiteren Delignifizierungsschritt zum Zwecke der Gewinnung eines Cellulose-Fasermaterials unterzogen wird.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet dass der nach Abtrennung der (Fermentations)Produkte verbleibende Feststoff in einer Biogasanlage fermentiert und zu Biogas weiterverarbeitet wird.

56

TRATADO DE COOPERACION INTERNACIONAL EN MATERIA DE PATENTES

P C T

REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE LA PATENTABILIDAD

(Capítulo II del tratado sobre la cooperación internacional en materia de patentes)

Referencia de registro del Solicitante o del Agente A 13696	PARA TOMAR ACCION ADICIONAL Ver Forma PCT/IPEA/416	
Solicitud Internacional No. PCT/AT2010/000137	Fecha de Presentación Internacional 30.04.2010	Fecha de Prioridad 30.04.2009
Clasificación de Patente Internacional (IPC) o Clasificación nacional e IPC INV. C12P7/10		
Solicitante Annikki GmbH		
1. Este reporte de examen preliminar internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Examen Preliminar Internacional de conformidad con el Artículo 35 y es transmitido al solicitante de acuerdo con el Artículo 36 2. Este reporte consta de <u>9</u> hojas incluyendo esta carátula. 3. Este reporte también está acompañado por ANEXOS; estos comprenden a. (X) (enviados al solicitante y la Oficina Internacional) un total de <u>1-3</u> hojas, se trata de (X) las hojas con la descripción, las reivindicaciones y/o los dibujos, las cuales fueron modificadas y son la base para este reporte, y/o las hojas que contienen correcciones aprobadas por la autoridad (Véase la Regla 70.16 y la Sección 607 de las Instrucciones Administrativa) () Hojas que sustituyen hojas anteriores pero que por los motivos indicados en el recuadro No. 1, punto 4 y el recuadro adicional, de acuerdo a la opinión de la autoridad contienen una modificación que excede el contenido de revelación de la Solicitud Internacional en la versión originalmente presentada. b. () (Solamente enviadas a la Oficina Internacional) i> en total (favor de indicar tipo y número de el/los soporte(s) de datos electrónicos), el/los que contiene(n) un listado de secuencia y/o las tablas asociadas, sólo en forma legible por computadora como se indica en el recuadro adicional con relación al listado de secuencia (ver sección 802 de las instrucciones administrativas) 4. Este reporte contiene las indicaciones que están relacionadas con los siguientes puntos: (X) Recuadro I Base del reporte () Recuadro II Prioridad () Recuadro III No se emite reporte con respecto a la novedad, paso inventivo y aplicación industrial () Recuadro IV Carencia de unidad de la invención (X) Recuadro V Establecimiento razonado conforme al Artículo 35(2) con respecto a la novedad, paso inventivo y aplicación industrial; citas y explicaciones que soportan esta determinación. () Recuadro VI Ciertos documentos citados () Recuadro VII Ciertos defectos en la solicitud internacional () Recuadro VIII Ciertas observaciones en la solicitud internacional.		
Fecha de presentación de la solicitud 09.08.2011	Fecha en la que se completa este reporte 29.08.2011	
Nombre y dirección postal de la Autoridad encargada del examen preliminar internacional Oficina Europea de Patentes - Gitschiner Str. 103 D-10958 Berlin Tel. +49 30 25901 - 0 Fax: +49 30 25901 - 840	Funcionario autorizado Fuchs, Ulrike Tel. +49 30 25901-321	

REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE LA PATENTABILIDAD

Recuadro No. I. Fundamento del reporte

1. Con respecto al idioma, la opinión se emitió en base a
(X) la solicitud internacional en el idioma en que fue
presentada en cuanto no se indica otra cosa en este
punto.
() una traducción de la solicitud internacional al idioma
siguiente, el cual es el idioma de la traducción que se
presentó para los fines siguientes:
() de la búsqueda internacional (conforme a las Reglas 12.3
y 23.1 b)).
() la publicación de la solicitud internacional (según la
Regla 12.4).
() del examen preliminar internacional (según la Regla 55.2
y/o 55.3)
2. Con respecto a las "partes constitutivas" de la
solicitud internacional, este reporte se elaboró basado en
(las hojas sustitutas que se presentaron a la oficina de
registro en virtud de un requerimiento según el Artículo 14
se consideran "como originalmente presentadas" dentro del
marco de éste reporte, y no se le anexan)

Descripción, páginas:

1-17 en la versión original presentada

Reivindicaciones, No.

1-11 presentadas el 09.08.2011 con fax

- () un listado de secuencia
- ver el recuadro adicional con respecto al listado de
secuencia

REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE LA PATENTABILIDAD

3. () En virtud de las modificaciones quedaron eliminados los documentos siguientes:

- () Descripción: Página:
- () Reivindicaciones: No. 11
- () Dibujos: hoja/figura
- () Protocolo de secuencia (indicaciones precisas)
- () Eventuales tablas pertenecientes al protocolo de secuencia (indicaciones precisas):

4. () Este reporte se redactó sin tener en cuenta (algunas) modificaciones anexas a este reporte y listadas a continuación, debido a que, por los motivos indicados en el recuadro adicional, en opinión de la autoridad exceden el contenido de revelación de la versión original presentada (Regla 70.2(c)):

- () Descripción: Página:
- () Reivindicaciones: No.
- () Dibujos: hoja/figura
- () Protocolo de secuencia (indicaciones precisas)
- () Eventuales tablas pertenecientes al protocolo de secuencia (indicaciones precisas):

5. () Este reporte se elaboró teniendo en cuenta la corrección de un error evidente que conforme a la Regla 91 fue autorizada por esta autoridad o se le comunicó a esta autoridad (Regla 70.2 e)).

6. () Al elaborar este reporte se tomó/tomaron en cuenta el/los siguiente(s) reporte(s) internacional(es) complementario(s) de la(s) autoridad(es) siguientes (R. 45bis.8b y c)

Recuadro No. V Determinación razonada según el Artículo 35(2) con relación a la novedad, paso inventivo y aplicación
Forma PCT/IPEA/409 (Julio 2011)

REPORT E PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE LA PATENTABILIDAD

industrial; citas y explicaciones que soportan la determinación.

1. Determinación

Novedad (N) Si: Reivindicaciones 1-11
No: Reivindicaciones

Paso inventivo (IS) Si: Reivindicaciones 1-11
No: Reivindicaciones

Aplicación Si: Reivindicaciones 1-11
industrial (IA) No: Reivindicaciones

2. Citas y explicaciones (Regla 70.7)
ver hoja anexa

Respecto al punto V

Determinación razonada con respecto a la novedad, la actividad inventiva y la utilidad industrial; documentos y explicaciones que apoyan esta determinación

El examen se fundó en los documentos de la solicitud modificados así como en otros argumentos que presentó el representante del solicitante y en indicaciones y medios de comprobación adicionales

Se remite a los documentos siguientes:

- D1 GOULD, J.M.: "Alkaline Peroxide Delignification of Agricultural Residues to Enhance Enzymatic Saccharification", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, Vol. 26, No. 1, 1984, páginas 46-52, XP002634243
- D2 GOULD, J.M. & FREER, S.N.: "High-Efficiency Ethanol Production from Lignocellulosic Residues Pretreated with Alkaline H₂O₂", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, Vol. 26, No. 6, 1984, páginas 628-631, XP002634244
- D3 CHUPKA, E.I. ET AL.: "Oxidation of wood and its components in water-organic media", PROCEEDINGS/SEVENTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON WOOD AND PULPING CHEMISTRY, BEIJING, P.R. CHINA, MAYO 25-28, 1993 IN COLLABORATION WITH 1993 SYMPOSIUM ON CELLULOSE AND LIGNOCELLULOSICS CHEMISTRY, BEIJING, P.R. CHINA, Vol. 3, 25 de Mayo de 1993, páginas 373-382, XP008135252, citado en la solicitud
- D4 US 2004/163779 A1 (PAN, G.), 26 de Agosto de 2004
- D5 JEFFRIES, T.W.: "Enzymatic removal and utilization of hemicellulose from pulps; paper pulping; xylan saccharification using endo-1,4-beta-D-xylanase from *Aureobasidium pullulans*; xylitol and ethanol preparation using *Candida shehatae*", BIOTECHABS, 1990, XP002633341

- 11 Modificaciones (Artículo 34(2)(b)PCT

El nuevo conjunto de reivindicaciones 1-11 presentado con el fax del 09.08.2011 es admisible en virtud de que no introduce objetos que exceden el contenido de revelación

de la solicitud internacional en la fecha de la presentación de la solicitud.

La nueva reivindicación 1 independiente se limitó a un procedimiento para producir productos de escisión de carbohidratos en el cual el material que contiene la lignocelulosa se trata con una solución acuosa que contiene peróxido de hidrógeno, un alcohol C1-4 y una base. Esta modificación es apoyada por el texto de la reivindicación 1 original así como por la descripción, página 3, renglón 29 - página 4, renglón 3.

2. Opinión

2.1 Claridad de las reivindicaciones (Artículo 6, Regla 6.3(a)(b) PCT)

2.1.1 La objeción 1.1 hecha en el reporte de examen preliminar internacional sobre la patentabilidad de acuerdo al PCT por la falta de claridad de las reivindicaciones y el deficiente apoyo de las reivindicaciones por las reivindicaciones se eliminó en virtud de la limitación de la nueva reivindicación 1 y en virtud de los argumentos adicionales e indicaciones y medios de prueba adicionales expuestos por el representante de solicitante.

2.1.2 La objeción 2.1 hecha en el reporte de examen preliminar internacional sobre la patentabilidad de acuerdo al PCT por la falta de claridad de las reivindicaciones se mantiene en pie. La expresión "en particular" en las presentes reivindicaciones 1, 3 no tiene por efecto una limitación del alcance de protección de las reivindicaciones, les proporciona a las características correspondientes un carácter exclusivamente facultativo y por consiguiente provoca una falta de claridad de la definición del alcance de protección pretendido. Además, una formulación de este tipo de las reivindicaciones no es concisa y contradice el segundo precepto del Artículo 6 PCT.

2.2 Novedad (Artículo 33(2)PCT)

D1 revela un método para producir productos de escisión de carbohidratos (ver resumen; página 46, columna 2, página 36 - página 50, columna 1, renglón 19, figuras 1-5, tablas I-

III; página 50, columna 2, renglón 16 - página 51, columna 2, renglón 32), que se caracteriza por la combinación de las medidas de que

- un material que contiene lignocelulosa se trata con una solución acuosa que comprende peróxido de hidrógeno y una base para escindir la lignocelulosa de manera oxidante y separar del material los productos de escisión, siendo que se obtiene un material concentrado de celulosa, y
- el material concentrado de celulosa obtenido se trata con un enzima que escinde carbohidratos para obtener los productos de escisión de carbohidratos.

D2 revela un método igual, siendo que los azúcares obtenidos se fermentan a alcohol, el cual se separa y se obtiene (ver todo el documento).

D3 revela un método para la producción oxidante de lignocelulosa (ver página 374, renglón 14 - página 378, renglón 15, figuras 1, 2; página 379, figuras 4, 5; página 380, renglón 28 - página 382, renglón 7) caracterizado por la medida de que

- un material que contiene lignocelulosa se trata con una solución acuosa que comprende peróxido de hidrógeno, etanol y una base para escindir la lignocelulosa de manera oxidante y separar del material los productos de escisión, siendo que se obtiene un material concentrado de celulosa y pseudocelulosa.

D4 revela un método para blanquear celulosa (ver todo el documento, en particular: página 2, columna 1, párrafo 19), caracterizado por la medida de que

- un material que contiene lignocelulosa se trata con una solución acuosa que comprende peróxido de hidrógeno, etanol y una base para escindir la lignocelulosa de manera oxidante y separar del material los productos de escisión, siendo que se obtiene un material concentrado de celulosa y pseudocelulosa.

D5 revela un método para producir xilosa (ver resumen), caracterizado por la combinación de las medidas de que

- un material que contiene lignocelulosa se trata con una solución alcalina diluida, y
- el material concentrado de celulosa y pseudocelulosa obtenido se trata con xilanasa para obtener la xilosa.

Sin embargo ninguno de estos documentos revela un método para producir productos de escisión de carbohidratos que se caracteriza por la combinación de las medidas de que

- un material que contiene lignocelulosa se trata con una solución acuosa que comprende peróxido de hidrógeno, un alcohol y una base para escindir la lignocelulosa de manera oxidante y separar del material los productos de escisión, siendo que se obtiene un material concentrado de celulosa y pseudocelulosa, y
- tratar el material concentrado de celulosa y hemicelulosa obtenido con un enzima que escinde carbohidratos para obtener los productos de escisión de carbohidratos.

Por consiguiente el objeto de las reivindicaciones 1-11 es nuevo.

2.3 Actividad inventiva (Artículo 33(3)PCT).

Para dictaminar sobre la actividad inventiva se consideran pertinentes los documentos D1-D4, siendo que D1 y D2 constituyen el estado más próximo de la técnica. Revelan un método para la producción de productos de escisión de carbohidratos que se caracteriza por la combinación de las medidas de que

- un material que contiene lignocelulosa se trata con una solución acuosa que comprende peróxido de hidrógeno y una base para escindir la lignocelulosa de manera oxidante y separar del material los productos de escisión, siendo que se obtiene un material concentrado con celulosa, y
- tratar el material concentrado con celulosa que se obtiene con un enzima que escinde carbohidratos para obtener los productos de escisión de carbohidratos (D1, D2), siendo que los azúcares obtenidos se fermentan a alcohol, el cual se separa y se obtiene (D2).

El objeto de la reivindicación 1 difiere de los métodos conocidos por D1, D2 en que

- el material que contiene lignocelulosa se trata con una solución acuosa que además de peróxido de hidrógeno y una base incluye adicionalmente un alcohol C1-4.

El efecto que mediante ello se obtiene consiste en que el material que contiene

lignocelulosa tratado de esta manera se puede transformar de manera enzimática con mayor rendimiento en productos de escisión de carbohidratos

Por consiguiente se puede considerar que el problema a ser resuelto con la presente invención es el de proporcionar un método perfeccionado para la producción de productos de escisión de carbohidratos a partir de material que contiene lignocelulosa.

Los ejemplos ejemplo de realización 1 y ejemplo comparativo 1A descritos en la presente solicitud (página 10) demuestran que con un método para la producción de productos de escisión de carbohidratos a partir de material que contiene lignocelulosa es posible aumentar el rendimiento de azúcares reductores mediante el hecho de que a la solución acuosa para el tratamiento del material que contiene lignocelulosa, la cual comprende peróxido de hidrógeno y NaOH se le adiciona etanol, siendo que el valor pH inicial se ajusta en 12.

Las indicaciones y medios de prueba correspondientes con respecto al metanol y al isopropanol fueron presentados por el representante del solicitante.

Por consiguiente es creíble que el problema en que se funda la invención realmente fue resuelto.

La solución que para este problema se propone en la presente reivindicación 1 se considera inesperada por los motivos siguientes:

Es cierto que el experto sabe por el estado más próximo de la técnica D1 que para la producción de productos de escisión de carbohidratos

- se trata material que contiene lignocelulosa con una solución acuosa que contiene peróxido de hidrógeno y una base para escindir la lignocelulosa de manera oxidante y separar del material los productos de escisión, con lo que se obtiene un material concentrado con celulosa, y

- tratar el material concentrado con celulosa que se obtiene con una enzima que escinde carbohidratos para obtener los productos de escisión de carbohidratos,

pero sin embargo el experto no obtiene una indicación de que el material que contiene lignocelulosa que se trata con una solución acuosa que contiene adicionalmente un

alcohol C1-4 se puede transformar de manera enzimática con mayor rendimiento en productos de escisión de carbohidratos.

Además es cierto que el experto conoce por D3, D4 que para la escisión oxidante de lignocelulosa

- el material que contiene lignocelulosa se trata con una solución acuosa que contiene peróxido de hidrógeno, etanol y una base para escindir la lignocelulosa de manera oxidante y separar del material los productos de escisión siendo que se obtiene un material concentrado con celulosa y hemicelulosa,

pero sin embargo el experto tampoco obtiene una indicación de que el material que contiene lignocelulosa tratado de esta manera se puede transformar de manera enzimática con un mayor rendimiento en productos de escisión de carbohidratos que el material que contiene lignocelulosa que se trató sin un alcohol C1-4.

Por consiguiente se considera que el objeto de las reivindicaciones 1-11 se funda en una actividad inventiva.

SCHWARZ & PARTNER
ABOGADOS DE PATENTES
ABOGADOS EUROPEOS DE PATENTES Y MARCAS

5 Carta de los abogados de patentes a la
Oficina Europea de Patentes
Erhardstrasse 27
D-80298 Munich

Viena a 7 de Agosto de 2011

10

Solicitud de Patente Internacional PCT/AT2010/000137
"Método para producir productos de escisión de carbohidratos
de un material lignocelulósico"
Annikki GmbH et al.

15

Contestación a la opinión escrita del 10 de Mayo de 2011 de
la autoridad de búsqueda internacional:

Se presenta un nuevo conjunto de reivindicaciones en el cual
se deberá fundar el examen. La reivindicación 1 se limitó con
20 respecto al alcohol utilizado, se eliminó fenol.

Con respecto a la sección 1 ("claridad de las
reivindicaciones ..."):

Es cierto que los ejemplos de realización documentan el uso
de etanol. Sin embargo no es cierto que de la parte de la
25 descripción no se desprende que no cualquier alcohol C1-4 es

adecuado para el método. Con respecto a esto se remite a la página 3, último párrafo:

"Como alcohol son adecuados en particular un alcohol C1-4 como metanol, etanol, propanol y butanol"

5 El solicitante llevó a cabo el ejemplo 1 también con metanol (solución: 39.5% de agua, 60% de metanol y 0.5% de peróxido de hidrógeno) e isopropanol (solución: 69.5% de agua, 30% de isopropanol y 0.5% de peróxido de hidrógeno), siendo que en lugar de 5 g de paja de trigo (ejemplo 1) en cada caso se
10 usaron 10 g de paja de trigo. Los resultados son como sigue:

Metanol: el rendimiento de azúcares reductores fue de $96\% \pm 4\%$

isopropanol: el rendimiento de azúcares reductores fue de $95\% \pm 3\%$

15 Por consiguiente quedan eliminadas las objeciones con respecto a 1.1 y 1.2 hechas por la autoridad.

Con respecto a la sección 2 ("novedad"):

La novedad de las reivindicaciones limitadas es indudable en virtud de que las reivindicaciones nuevas presentadas ya se
20 reconocieron como nuevas.

Con respecto a la sección 3 ("actividad inventiva"):

El solicitante coincide con el punto de vista de la examinadora en el sentido de que se puede considerar que el problema a ser resuelto con la presente invención es el de
25 proporcionar un método perfeccionado para la producción de

productos de escisión de carbohidratos a partir de material que contiene lignocelulosa.

La nueva reivindicación 1 ya no se dirige a cualquier alcohol a discreción, y la solución del problema se demuestra con el ejemplo presente en la solicitud así como con los ejemplos precedentemente indicados. Por consiguiente el objeto para el que se solicita protección se puede considerar fundado en una actividad inventiva.

Se suplica emitir un reporte de examen preliminar internacional positivo tomando en cuenta estos argumentos.

/rubrica/

Dr. Albin Schwarz

Abogado de patentes

Schwarz & Partner

Asociación No. 358

Anexos

Reivindicaciones (por fax y correo)

Copia de confirmación (se solicita devolución)

con sobre (solo por correo)

Recibo telefónico (solo por fax)

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

● PARA REALIZAR EL EXAMEN DE

PATENTABILIDAD

REIVINDICACIONES ENMENDADAS

REIVINDICACIONES

1. Método para producir productos de escisión de
carbohidratos, en particular azúcares, que comprende la
5 combinación de las medidas caracterizado porque comprende:
tratar material de lignocelulosa con una solución acuosa que
comprende peróxido de hidrógeno, un alcohol C1-4 y una base,
para escindir la lignocelulosa de manera oxidante y separar
del material los productos de escisión, con lo que se obtiene
10 un material concentrado con celulosa y hemicelulosa, y -
tratar el material concentrado con celulosa y hemicelulosa
con un enzima que escinde carbohidratos para obtener
productos de escisión de carbohidratos.

2. Método de conformidad con la reivindicación 1,
15 caracterizado porque la escisión se lleva a cabo a una
temperatura inferior a 100°C.

3. Método de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque previamente al
tratamiento del material de lignocelulosa la solución acuosa
20 tiene un valor pH que es superior a 10.0 e inferior a 12.0,
en particular inferior a 11.0.

4. Método de conformidad con la reivindicación 3,
caracterizado porque durante el tratamiento no se adiciona
una base.

25 5. Método de conformidad con cualquiera de las

reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque como material de lignocelulosa se usa paja, bagazo, pastos energéticos y/o desechos de madera.

6. Método de conformidad con cualquiera de las
5 reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque el material de lignocelulosa se encuentra presente en la solución acuosa con una densidad material de 5-40%.

7. Método de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el material
10 concentrado con celulosa y hemicelulosa se trata con una xilanasa y/o una celulasa para obtener los azúcares.

8. Método de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque los azúcares
obtenidos se fermentan a alcohol, el cual se separa y se
15 obtiene.

9. Método de conformidad con cualquiera de las
reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque el sólido
disgregado tras el tratamiento se transforma con una
xilanasa, y la fase líquida que se obtiene se transforma en
20 xilitol, y el sólido remanente

- se transforma adicionalmente con celulosa para obtener diferentes productos de fermentación; o

- se somete a una transformación térmica o termoquímica del material; o

- 25 - se somete a una transformación microbiana del

material mediante bacterias, levaduras u hongos; o

- se somete a una etapa de deslignificado adicional con el fin de obtener un material de fibras de celulosa.

10. Método de conformidad con la reivindicación 9,
5 caracterizado porque tras el tratamiento, el sólido disgregado se transforma con una xilanasa y la fase líquida obtenida se transforma en xilitol mediante una xilosadeshidrogenasa, y el sólido remanente

- se transforma adicionalmente con celulosa para
10 obtener diversos productos de fermentación; o

- se somete a una transformación térmica o termoquímica del material; o

- se somete a una transformación microbiana del material mediante bacterias, levaduras u hongos; o

15 - se somete a una etapa de deslignificado adicional con el fin de obtener un material de fibra de celulosa.

11. Método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 9 u 10, caracterizado porque tras la separación de los productos (de fermentación) el sólido
20 remanente se fermenta en una instalación de biogas y se procesa para obtener biogas.

73

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: C12P 007/010	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) ANNIKKI GMBH	
(30) Prioridad	(31) Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	A 670/2009	30/04/2009	AT
	A 1497/2009	23/09/2009	AT
	A 2030/2009	23/12/2009	AT
		(72) Inventor(es) KARIN FACKLER Y OTROS	
		(74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional: 30/11/2011		(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 04/11/2010
	Fecha de presentación de la solicitud: 30/04/2010		N° publicación: WO 2010/124312
	No. de solicitud PCT/AT2010/000137		
(54) Título: METODO PARA PRODUCIR AZUCARES DE BIOMASA LIGNOCELULOSICA QUE COMPRENDE UNA ETAPA DE DESLIGNIFICADO ALCOHOLICO-ALCALINO EN LA PRESENCIA DE H2O2			

Resumen:

La invención se refiere a un método para producir productos de escisión de carbohidratos, caracterizado por una combinación de las siguientes medidas: se trata material de lignocelulosa con una solución acuosa que contiene peróxido de hidrógeno, un alcohol, en particular alcohol C1-4 o un fenol, y una base, con el fin de escindir lignocelulosa de manera oxidante y separar los productos de escisión del material. De conformidad con la invención se obtiene un material concentrado con celulosa y hemicelulosa, y el material obtenido que está concentrado con celulosa y hemicelulosa se trata con un enzima que escinde carbohidratos con el fin de obtener los productos de escisión de carbohidratos.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 103544

Bogotá D.C., Octubre 21 de 2011 - 17:08:03

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

***** Soporte del Pago *****

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431629962	21/10/2011	39.126.000.00

***** Conceptos Pagados *****

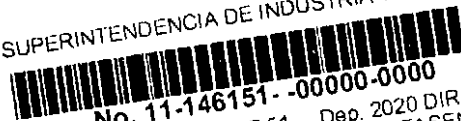
CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	571.000.00	571.000.00
			\$571.000.00

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

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-146151-00000-0000

Fecha: 2011-10-28 12:07:51 Dep. 2020 DIR. NUEVAS CR
Tra. 11 PATENTE IYII Eve: 379 FASE NACIONAL II
Act. 411 PRESENTACION Folios: 75

CÓDIGO: 18856 - 841 - 001 - 6

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

Octubre 21 de 2011 - 17:08:12

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 11 - 101308
		Bogotá D.C., Octubre 14 de 2011 - 17:10:34

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	431629995	14/10/2011	41.725.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. LINDITARIO	Vr. CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICIALES	27.000.00	27.000.00
			\$27.000.00
=====			

SON: **VEINTISIETE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 11-146151-00000-0000
Fecha: 2011-10-28 12:07:51 Dep. 2020 DIR. NUEVASCR
Tra. 11 PATENTE/II Eve: 379 FASENACIONAL/II
Act. 411 PRESENTACION Folios: 75

0010: 18856 - 841-001 - 6

☐ Indicación que se 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 el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

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

☒ Indicación que se solicita una PCT

☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)

☐ Dibujos de ser estos pertinentes

☒ 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 DE 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 gráfica de un esquema de trazado

☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐