



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	102016000121963
Data Deposito	01/12/2016
Data Pubblicazione	01/06/2018

Classifiche IPC

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	13	K	1	02
Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	12	P	7	10
Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	08	B	37	14
Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
D	21	C	3	02
Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
D	21	C	1	06

Titolo

SACCARIFICAZIONE DI CELLULOSA, PROCEDIMENTO DI FRAZIONAMENTO DI BIOMASSA LIGNOCELLULOSICA E PROCEDIMENTO DI IDROLISI DI CELLULOSA

TITOLO: SACCHARIFICAZIONE DI CELLULOSA, PROCEDIMENTO DI FRAZIONAMENTO DI BIOMASSA LIGNOCELLULOSICA E PROCEDIMENTO DI IDROLISI DI CELLULOSA

5 **A nome:** HYDRO TECHNICAL ENGINEERING SRL, Via Montorio 108, 37131 Verona (VR), Italia

Inventore: Cavalli, Stefano

* * * * *

CAMPO DELLA TECNICA

10 L'invenzione riguarda la produzione di zuccheri di base (glucosio) che trovano applicazione, per esempio, nella fermentazione e produzione di (bio)etanolo, per la sintesi di prodotti chimici e per la polimerizzazione e produzione di fibre. L'invenzione riguarda in particolare l'isolamento di cellulosa da materiale lignocellulosico tramite un procedimento di frazionamento e propone un procedimento di idrolisi della cellulosa così isolata. Nella loro
15 combinazione i due procedimenti permettono la saccharificazione di materiale lignocellulosico.

STATO DELLA TECNICA

Materials cellulosici esistono in una grande varietà in natura. Un tale materiale noto naturale è, per esempio, il legno. È essenzialmente composto di cellulosa (un materiale composto
20 essenzialmente di glucosio), emicellulosa (un materiale prevalentemente composto da pentosi ed esosi) e lignina (una sostanza polimerica con anelli aromatici con gruppi metossilici). L'utilizzo di legno avviene, per esempio, per la produzione di calore, come materiale costruttivo, per la produzione di carta, ma è possibile anche un utilizzo puramente chimico. Metodi chimici che separano i suddetti componenti del legno e che trasformano la cellulosa in
25 glucosio sono noti da tempo, ma presentano diversi svantaggi. Due principi tradizionali sono il trattamento con acidi concentrati e il trattamento con acido diluito. Nel primo caso si riscontrano grandi perdite di glucosio, e nel secondo caso l'estrazione della cellulosa è incompleta. Metodi enzimatici o microbiologici portano spesso direttamente a etanolo senza la possibilità di isolare il glucosio, oppure chiedono l'impiego di microorganismi o enzimi
30 differenti.

La frazione cellulosa, oltre a essere depolimerizzata al fine di renderla più aggredibile dal processo di idrolisi per la trasformazione in monomeri di glucosio, deve ovviamente essere separata dall'involucro di emicellulosa-lignina, in modo da aumentare la superficie accessibile per la trasformazione in zuccheri. Inoltre deve essere parzialmente destrutturata in un relativo pretrattamento. Diversi metodi di pretrattamento atti a ovviare questo problema si possono trovare nella letteratura scientifica o già applicati industrialmente. Essi comprendono: la fresatura (milling), irradiazioni, trattamenti a microonde, esplosione di vapore (steam explosion), esplosione di fibre di ammonio (ammonia fiber explosion, AFEX), l'uso di CO₂ supercritica e la sua esplosione, idrolisi alcalina, un trattamento con acqua liquida calda (liquid hot water LHW), l'impiego di solventi organici, l'ossidazione umida, ozonolisi, l'idrolisi con acido diluito o concentrato e pretrattamenti biologici. Tutti questi procedimenti non sono soddisfacenti dal punto di vista del frazionamento del legno, della resa in cellulosa o in glucosio, dell'aspetto economico-ambientale che tiene conto della valorizzazione di tutte le parti della biomassa, come sottoprodotti e scarti alimentari.

Attualmente, per la produzione di biocarburanti, prodotti farmaceutici e cosmetici, polimeri e pigmenti, l'industria chimica utilizza prodotti di base dell'industria agroalimentare (zuccheri, amidi, fibre ecc.) che sono però competitivi anche nel mercato Food e Feed. C'è una concreta necessità di sviluppare nuove tecnologie per la produzione di polimeri, biocarburanti e prodotti farmaceutici e cosmetici, che valorizzino al meglio gli scarti non commestibili dell'industria agroalimentare, in termini sia ambientali che economici. L'attuale produzione di bioetanolo utilizza una tecnologia basata sull'idrolisi enzimatica. Pur essendo la tecnologia più sostenibile essa presenta forti limiti: lunghi tempi di reazione, produzione discontinua, perdita di carboidrati e formazione di inibitori per la crescita enzimatica, dovuti all'incompatibilità del processo enzimatico con il trattamento della lignocellulosa, la cui struttura compatta rende impegnativo il processo di solubilizzazione e idrolisi enzimatica.

ESPOSIZIONE DELL'INVENZIONE

L'invenzione si pone lo scopo di proporre un procedimento adeguato che è in grado di produrre una cellulosa a elevata purezza già con un certo grado di decristallizzazione, in modo da rendere più facile il processo di formazione della cellulosa nanofibrillata o NFC (nanofibrillated

cellulose) da materiale lignocellulosico, cioè da legno. Un ulteriore scopo è proporre un procedimento di frazionamento che permetta di estrarre dal materiale lignocellulosico, oltre alla cellulosa, anche l'emicellulosa e la lignina e separare quest'ultime dalla cellulosa prima della fase di idrolisi, in modo da aumentarne l'efficienza. Ulteriore scopo dell'invenzione è trovare un procedimento efficace ed economicamente sostenibile per la saccarificazione di materiali lignocellulosici provenienti da colture non alimentari o di scarto.

C'è una concreta necessità di sviluppare nuove tecnologie per la produzione dei suddetti prodotti che non siano in competizione con l'industria alimentare, e che valorizzino al meglio gli scarti non commestibili dell'industria agroalimentare, in termini sia ambientali che economici. Scopo ulteriore dell'invenzione è proporre procedimenti di frazionamento del legno e di idrolisi della cellulosa ricavata dal frazionamento che non ricorre all'utilizzo di enzimi. L'invenzione si pone poi l'obiettivo di proporre procedimenti di frazionamento e idrolisi che minimizzino la degenerazione a sostanze non sfruttabili o inibitorie dei processi di fermentazione alcolica e che contemporaneamente siano economicamente sostenibili, ossia veloci, scalabili e a basso impatto ambientale ed energetico, cioè tenendo conto dei seguenti fattori tecnologici: bilancio energetico, riciclo dei reagenti, corrosione, i fattori ambientali e il costo del capitale iniziale e di gestione.

Lo scopo viene raggiunto da un procedimento di frazionamento di biomassa lignocellulosica che comprende le seguenti fasi:

- (i) una delignificazione in ambiente basico della biomassa lignocellulosica; e
- (ii) un trattamento di bleaching con un ossidante in ambiente basico del solido risultante dalla fase (i).

La combinazione delle fasi (i) e (ii) permette ottenere come fase solida la cellulosa, mentre lignina ed emicellulosa si trovano nelle fasi liquide prodotte durante la delignificazione e il bleaching. Inoltre, i processi proposti sono processi delicati che praticamente non risultano in una distruzione della cellulosa.

Sostanze di partenza come biomassa lignocellulosica possono derivare, per esempio da scarti dell'agricoltura, da rifiuti forestali, segatura.

In una variante preferita dell'invenzione, la fase (i) comprende le seguenti fasi:

- (i-1) triturazione e opzionalmente vagliatura di biomassa lignocellulosica;

(i-2) sospensione della biomassa tritata in acqua e realizzazione di un ambiente basico, preferibilmente aggiungendo idrossido di sodio NaOH in una concentrazione da 1 a 3 % in peso, più preferibilmente una concentrazione di circa 3% in peso, per ottenere la delignificazione in ambiente basico;

- 5 (i-3) separazione delle fasi solida e liquida ottenute nella fase (i-2), preferibilmente tramite filtrazione, ottenendo una prima fase solida e una prima fase liquida.

Un tritato molto omogeneo (fase (i)) favorisce la cinetica di reazione nelle fasi successive. L'idrossido di sodio si è rivelato un reagente particolarmente idoneo per la fase di pretrattamento mirata all'isolamento di una cellulosa chimicamente purificata CPC (chemically
10 purified cellulose). Altri reagenti basici idonei sono, per esempio, idrossidi o ossidi basici, in particolare idrossidi alcalini.

La separazione in fase (i-3) può avvenire con altri metodi oltre alla filtrazione, come per esempio una centrifuga. La persona esperta del ramo trova con le sue conoscenze generali facilmente alternative alla filtrazione per separare il solido dal liquido.

- 15 La delignificazione vantaggiosamente avviene a temperature $> 50^{\circ}\text{C}$, preferibilmente a una temperatura attorno a 70°C . Come tempi di reazione sono spesso sufficienti 30 min, ma per completare il processo sono preferibili tempi di circa due ore.

In una variante molto vantaggiosa dell'invenzione, il primo solido della fase (i-3) viene sottoposto nella fase (ii) al trattamento di bleaching con un ossidante in ambiente basico in cui
20 il primo solido viene disperso in una soluzione di perossido di idrogeno H_2O_2 in ambiente basico, preferibilmente alcalino, in cui la percentuale in peso del H_2O_2 corrisponde a 1 – 2 % e il pH viene regolato a 11,0 a 11,6, preferibilmente a circa 11,5-11,6. Ipotizzabili sono altri ossidanti, come i perossiacidi organici (per esempio: acido peracetico), ma l'idrossido di idrogeno è particolarmente adatto anche per attivare la cellulosa con una parziale disgregazione
25 in oligomeri che facilita successivamente la sua idrolisi. Il processo del bleaching dipende dal pH. Nel punto di pH ottimale di 11,5-11,6 si avrà la massima concentrazione dei radicali HO^{\cdot} .

Il bleaching vantaggiosamente avviene a temperature $> 50^{\circ}\text{C}$, preferibilmente a una temperatura attorno a 70°C . Come tempi di reazione sono spesso sufficienti 30 min, ma per completare il processo sono preferibili tempi di circa due ore. In caso di bleaching incompleto,
30 lo stesso verrà ripetuto sul materiale non trasformato.

Mentre la delignificazione separa già gran parte della lignina dalla cellulosa, il bleaching separa l'emicellulosa dalla cellulosa e in più cambia la struttura cristallina della cellulosa e inizia a sfibrarla e spezzarla in catene corte.

5 Per trasformare la cellulosa in una forma idonea all'idrolisi, in una variante preferita dell'invenzione, la fase (ii) è seguita da una fase (iii) di separazione della miscela ottenuta nella fase (ii) in una seconda fase solida e una seconda fase liquida, e da una fase (iv) in cui detto secondo solido viene trasformato tramite disgregazione, preferibilmente in una dispersione in acqua, in cellulosa nanofibrillata.

10 La cellulosa nanofibrillata, è caratterizzata da larghezze o diametri di fibra < 100 nm, solitamente tra 1 e 15 nm, spesso inferiori a 10 nm. Tali dimensioni possono essere determinati, per esempio con microscopio elettronico a scansione (SEM, Scanning Electron Microscope) o altre tecniche di microscopia o diffrazione note all'esperto.

La disgregazione può avvenire con tanti tipi di disgregatori disponibili sul mercato, come per esempio frullatori, omogeneizzatori, disgregatori a ultrasuoni.

15 Preferibilmente, la prima e/o la seconda fase liquida viene/vengono acidificata/e, preferibilmente a un pH < 2, più preferibilmente a un pH di circa 1,5, per provocare la precipitazione di lignina e la lignina viene separata, preferibilmente tramite centrifuga, rispettivamente da una terza e/o quarta fase liquida. La lignina trova applicazione nell'industria zoo-farmaceutica, come antibiotico naturale per polli o anche come combustibile.

20 L'acidificazione avviene preferibilmente con acidi inorganici o minerali, preferibilmente con acido solforico H₂SO₄ oppure acido cloridrico HCl.

Il recupero della lignina viene quindi condotto facendola precipitare in ambiente acido. Il pH è una variabile di grande influenza sulla precipitazione della lignina dal liquido nero prodotto dal processo alcalino. Si ha un aumento della massa della lignina precipitata diminuendo il pH sotto
25 la neutralità, in particolare attorno a 1,5 si può vantaggiosamente ottenere un recupero quasi totale. Il recupero della lignina non è solo interessante dal punto di vista ambientale, ma anche da un punto di vista economico, perché può essere riutilizzato per ottenere diversi prodotti chimici di interesse commerciale.

Per integrare il frazionamento, in una variante preferita dell'invenzione, il pH della terza e/o
30 della quarta fase liquida viene alzato, preferibilmente a circa 5,5, e viene aggiunto un solvente

meno polare dell'acqua, preferibilmente etanolo, per far precipitare l'emicellulosa che opzionalmente viene separata. L'innalzamento del pH vantaggiosamente avviene con NaOH, ipotizzabili sono altre basi, come idrossidi, ossidi basici, in particolare idrossidi alcalini. È possibile utilizzare anche ammoniaca. Si ottiene così la terza componente del legno, l'emicellulosa che è un composto importante per la produzione di carta (rende la carta per esempio opaca) oppure come composto di base per la produzione di furfurali o furani dalle pentosi. Alternative all'etanolo sono altri tensioattivi neutri non ionici, come per esempio gli alcoli grassi.

La cellulosa nanofibrillata, in particolare quella ottenuta secondo il procedimento di frazionamento secondo l'invenzione, può essere sottoposta a un'idrolisi.

Un ulteriore aspetto dell'invenzione riguarda un procedimento di idrolisi di cellulosa che comprende la fase di sospensione della cellulosa, preferibilmente la cellulosa nanofibrillata ottenuta secondo l'invenzione, insieme a un materiale solido insolubile in acqua contenente gruppi acidi, preferibilmente una resina a scambio ionico acida, in un solvente acquoso, preferibilmente acqua, che risulta nell'idrolisi della cellulosa trasformandosi in glucosio. L'uso di "acidi solidi", come in particolare resine a scambio ionico, come resine a scambio ionico portatrici di protoni H^+ , permettono la catalisi dell'idrolisi su una grande superficie e localizzata in punti definiti sul catalizzatore acido e sulla cellulosa in interazione con il catalizzatore. Molto adatta è, per esempio, una resina a base di stirene divinilbenzene con gruppi $-SO_3H$ come Amberlyst 15[®]. Il catalizzatore funziona come una membrana protonica in una trasformazione elettrochimica. Il meccanismo di reazione supposto è costituito dall'assorbimento dei glucani tramite interazione di van der Waals sul catalizzatore e successiva idrolisi tramite i gruppi superficiali $-SO_3H$.

L'utilizzo di questi catalizzatori solidi determina un significativo miglioramento dell'efficienza e della sostenibilità dell'idrolisi. I principali vantaggi comprendono la riciclabilità del catalizzatore, i mezzi di reazione non corrosivi e quindi meno danni al reattore, senza la necessità di neutralizzare gli acidi o le basi e, di conseguenza, la formazione di sale non associato, la facilità di separazione del prodotto, inoltre riduzione degli inquinanti. Vantaggiosamente, l'idrolisi avviene sotto pressione a temperature attorno a 120°C. Un reattore

idoneo è un autoclave oppure un digestore acido, cioè una bomba per la digestione acida presente sul mercato nell'industria dello sbiancamento della carta (processo Kraft).

Molto vantaggiosamente, il materiale solido insolubile in acqua contenente gruppi acidi viene separato dalla soluzione di idrolisi, rigenerato e re-introdotta nel processo di idrolisi. L'acido
5 utilizzato nell'idrolisi non produce scarti acidi.

Un ultimo aspetto dell'invenzione riguarda un procedimento di saccarificazione di biomassa lignocellulosica che combina i procedimenti di frazionamento e di idrolisi secondo l'invenzione e comprende

(a) il frazionamento della biomassa lignocellulosica secondo l'invenzione ottenendo una
10 cellulosa nanofibrillata; e

(b) l'idrolisi della cellulosa secondo l'invenzione della cellulosa nanofibrillata.

Rispetto a procedimenti tradizionali di saccarificazione che comportano un deterioramento o una perdita della cellulosa fino al 90 % (pretrattamenti con acidi concentrati) o del 20-30 % nel caso di trattamenti con acidi diluiti, il procedimento proposto risulta in una perdita molto
15 inferiore, soltanto del 2-3 % sul totale di cellulosa, emicellulosa e lignina.

I procedimenti proposti hanno diversi vantaggi: la separazione della biomassa lignocellulosica in cellulosa, emicellulosa e lignina; un coefficiente degenerativo basso della cellulosa, una trasformazione della cellulosa in una forma facilmente idrolizzabile, l'utilizzo di pochi reagenti, l'evitamento di enzimi e tempi di reazione brevi.

20 Riassumendo, il procedimento di frazionamento secondo l'invenzione fornisce una fase di pretrattamento che consiste nell'isolamento della cellulosa chimicamente purificata e nel contemporaneo recupero della lignina e dell'emicellulosa, come nella solubilizzazione e depolimerizzazione della cellulosa (parziale disgregazione in oligomeri) prima della fase di idrolisi e poi l'ottimizzazione dell'idrolisi attraverso l'utilizzo di materiali solidi portatori di
25 gruppi acidi.

Il procedimento secondo l'invenzione ha permesso di ottenere, con la scelta di opportuni reagenti, il frazionamento della fonte legnosa e l'isolamento di cellulosa chimicamente purificata, lignina ed emicellulosa. Inoltre, si è ottenuta l'attivazione della cellulosa trasformandola in una cellulosa nanofibrillata. Il particolare procedimento di frazionamento che
30 ha portato a un elevato grado di cristallizzazione della cellulosa, ha facilitato la realizzazione

della cellulosa nanofibrillata tramite l'utilizzo di un semplice disgregatore. Le soluzioni alcaline utilizzate per la delignificazione hanno promosso la rottura dei legami esteri tra la lignina e i carboidrati e la sua frammentazione e dissoluzione. Di conseguenza, c'era una grande efficienza di rimozione della lignina. Inoltre, le soluzioni alcaline hanno l'effetto di rigonfiare la biomassa, alterando il grado di cristallinità della cellulosa. Quest'ultimo aspetto potrebbe portare all'effetto collaterale della solubilizzazione parziale dell'emicellulosa, in quanto l'emicellulosa viene generalmente definita un polisaccaride a basso peso molecolare e quindi solubile, che può essere estratto dai tessuti lignocellulosici dall'acqua o da soluzioni alcaline. Questo è un problema in quanto la cellulosa recuperata in questa fase di delignificazione è ancora in parte legata alla lignina, una soluzione si è trovata riducendo la concentrazione della base (per esempio: NaOH dal 3% all'1% in peso). Recuperando l'emicellulosa solamente nella fase di bleaching, si potrà avere un solido di un colore più bianco, conseguenza di un contenuto inferiore di lignina associata, rispetto a quella ottenuta nella fase di delignificazione alcalina.

Durante la delignificazione alcalina si è riscontrato anche che tale fase non ha portato a una dissoluzione completa della lignina; questo è dovuto al fatto che la lignina possiede due tipologie di legame all'interno della struttura lignocellulosica. Legami esteri suscettibili alle soluzioni alcaline e legami eteri che non sono suscettibili. Di conseguenza, è stato opportuno procedere attraverso una fase di ossidazione (bleaching).

La soluzione perossido alcalina, utilizzata nella fase di bleaching, si è dimostrata molto efficace sia per la delignificazione che per la solubilizzazione dell'emicellulosa dai materiali lignocellulosici, in quanto H_2O_2 è instabile in condizioni alcaline e si decompone facilmente in radicali idrossilici ($HO\cdot$) e radicali superossido ($O_2\cdot$). Questi radicali probabilmente causano l'ossidazione della struttura della lignina, per la scissione di alcuni legami tra le unità e, infine, per la dissoluzione di lignina e dell'emicellulosa senza danneggiare quest'ultima, con la possibilità quindi di recuperare quest'ultime allo stato solido, cosa difficile da fare con il trattamento acido. Altri trattamenti noti nell'arte portano o a elevati costi di gestione (processo con solventi organici) oppure a complicate condizioni operative (processo di Kraft).

Durante il trattamento con idrossido di idrogeno alcalino non solo si ha il completamento della dissoluzione della lignina, ma si ha anche una completa dissoluzione dell'emicellulosa, inoltre si ha la conseguenza di una elevata depolimerizzazione/decristallizzazione della cellulosa.

Per la disgregazione è preferibile non essiccare la cellulosa chimicamente purificata e parzialmente depolimerizzata isolata nel procedimento di frazionamento, poiché durante l'essiccazione perde la sua struttura disgregata, ciò rende più difficile la sua trasformazione nella cellulosa nanofibrillata. Queste complicazioni sono state ritrovate anche nel tentativo di
5 attivare (disgregare) la cellulosa microcristallina commerciale.

Per la produzione di cellulosa nanofibrillata da cellulosa cristallina pura, le tecnologie che si possono utilizzare possono essere: metodo di macino a sfere, macinazione mista o depolimerizzazione meccano-catalitica di cellulosa (macinare la cellulosa e il catalizzatore, per esempio acido solforico, insieme), trattamento di cellulosa (4 % in peso) con NaOH/urea/H₂O
10 in un rapporto di 7:12:81 e dispersione a ultrasuoni o con un omogeneizzatore, impiego di microonde.

Come riportato in Tabella 1, che riporta il bilancio di massa delle componenti della biomassa trattata, la cellulosa recuperata è costituita principalmente dalla componente depolimerizzata (93% di cellulosa chimicamente purificata parzialmente depolimerizzata su cellulosa totale). Il
15 bilancio di massa è stato ottenuto isolando, asciugando con bilancia termica e pesando le varie fasi solidi del processo.

Tabella 1

Componente	Massa [mg]	% in peso su biomassa iniziale	% in peso su cellulosa totale
biomassa	1030 ± 1	-	-
cellulosa cristallina	40 ± 1	3,9	7,4
cellulosa depolimerizzata	498 ± 1	48,3	92,6
cellulosa totale	598 ± 1	52,2	-
emicellulosa	262 ± 1	25,4	-
lignina	209 ± 1	20,3	-
sostanza secca rimanente	21 ± 1	2,0	-

I procedimenti ideati dall'invenzione per il frazionamento della biomassa e per la produzione di zuccheri si è dimostrato valido per l'obiettivo prefissato, cioè lo sviluppo di una tecnologia atta al trattamento delle biomasse lignocellulosiche a elevata complessità strutturale e che sia al contempo efficace, ossia in grado di frazionare le tre componenti della struttura lignocellulosica e di estrarre la massima quantità e qualità di zuccheri semplici minimizzandone la degenerazione a sostanze non sfruttabili o inibitorie dei processi di fermentazione alcolica. Si tratta di procedimenti economicamente sostenibili, ossia scalabili, e a basso impatto ambientale ed energetico.

L'isolamento della cellulosa, ignorando l'isolamento di lignina ed emicellulosa, si divide preferibilmente nelle seguenti fasi:

- (i) pretrattamento con:
 - (i-1) macinazione della biomassa,
 - (i-2) delignificazione alcalina con idrossido di sodio NaOH,
 - (i-3) bleaching con perossido di idrogeno H₂O₂ in ambiente basico,
 - (i-4) recupero e solubilizzazione/depimerizzazione della cellulosa chimicamente purificata formando la cellulosa nanofibrillata
- (ii) idrolisi con "acidi solidi" della cellulosa nanofibrillata.

La base per il procedimento di idrolisi è la solubilità della cellulosa. La cellulosa nativa non è solubile, in quanto ha una struttura altamente cristallina stabilizzata da una forte rete di legami a idrogeno intra- e intermolecolari. La Tabella 2 evince la solubilità del glucosio e dei polimeri cellulosici.

Tabella 2

Zucchero/cellulosa	Solubilità in acqua [g/l] a 25°C
glucosio	909
cellobiosio	120
Oligosaccaridi (nanocellulosa, 3-10 unità)	solubili
polisaccaridi (microcellulosa)	insolubili

Dalla tabella si evince che il grado di polimerizzazione ha una notevole influenza sulle efficienze di idrolisi della cellulosa. Secondo la letteratura è possibile

depolimerizzare/solubilizzare la cellulosa cristallina attraverso l'utilizzo di solventi acidi o basici, capaci di dissolvere la cellulosa senza modificare chimicamente le molecole costituenti (denominate come solventi non derivatizzanti); oppure attraverso l'utilizzo di microonde o di bombe per la digestione in acido o base diluite. In questo modo, già arrivando alla formazione della nanocellulosa, si potrà avere un notevole incremento dell'efficienza. Commercialmente si possono trovare due classi generali di nanomateriali di cellulosa, che sono la nanocellulosa cristallina e la cellulosa nanofibrillata NFC che si presenta a livello nanometrico come una rete di filamenti (catene di glucano) altamente intrecciate, mentre le cellulose cristalline si presentano come delle aste altamente rigide. La tipologia di nanocellulosa che meglio si adatta all'obiettivo dell'invenzione è la cellulosa nanofibrillata. I vantaggi che si ottengono sono una maggiore produzione di glucosio dovuta alla minore presenza dei legami a idrogeno. L'invenzione è riuscita a proporre un procedimento che produce cellulosa nanofibrillata attraverso condizioni operative moderate che portano a minori costi iniziali e di gestione rispetto ai metodi standard.

Gli scopi e i vantaggi detti verranno meglio evidenziati durante la descrizione di un preferito esempio di esecuzione dell'invenzione data a titolo indicativo, ma non limitativo. Varianti dell'invenzione sono oggetto delle rivendicazioni dipendenti. La descrizione del preferito esempio di esecuzione del procedimento secondo l'invenzione viene data a titolo esemplificativo e non limitativo con riferimento agli allegati disegni.

20

BREVE DESCRIZIONE DEL DISEGNO

La fig. 1 illustra in un diagramma a blocchi un esempio esecutivo per la saccarificazione di materiale lignocellulosico che comprende il procedimento di pretrattamento-frazionamento del materiale lignocellulosico e l'idrolisi della cellulosa isolata in questo procedimento di frazionamento.

25

DESCRIZIONE DI UN PREFERITO ESEMPIO DI ESECUZIONE

La figura 1 illustra in un diagramma a blocchi un esempio esecutivo per la saccarificazione di materiale lignocellulosico che comprende un procedimento di pretrattamento-frazionamento del materiale lignocellulosico **A** e un procedimento di trasformazione di cellulosa nanofibrillata

30

isolata in glucosio **B** attraverso idrolisi. Il pretrattamento-frazionamento **A** porta all'isolamento di cellulosa purificata e nanofibrillata, di emicellulosa e di lignina. Il frazionamento comprende sul ramo che porta alla frazione di cellulosa due sotto-procedimenti, e in particolare la delignificazione alcalina **A-1** e il bleaching ossidativo **A-2**.

5

Fase A: Isolamento della cellulosa chimicamente purificata e recupero della lignina e dell'emicellulosa

In partenza c'è il materiale legnoso tritato e vagliato (biomassa lignocellulosica) **2** a cui viene aggiunto idrossido di sodio NaOH **4**. Nello specifico, la massa tritata viene trattata con una
10 soluzione di idrossido di sodio NaOH al 3% in peso (p/p) per due ore a 70°C sotto agitazione magnetica (30 ml di acqua, ca. 1 g di materiale tritato, 0,93 g di NaOH). Questo trattamento di delignificazione alcalina **6** ha lo scopo di rimuovere la lignina. Al termine del trattamento alcalino, la soluzione diventa di colore marrone scuro per la solubilizzazione della lignina in ambiente basico. Alla fine della fase di delignificazione alcalina, si nota anche la presenza di
15 un residuo cellulosico cristallino biancastro, costituito principalmente da carboidrati. Si procede alla filtrazione **8**, al livello di laboratorio per esempio con un filtro Büchner. Segue la fase dell'isolamento della cellulosa chimicamente purificata:

Il residuo solido **10**, una cellulosa cristallina, si presenta di colore marroncino, imputabile a una delignificazione incompleta. Per portare a completamento la delignificazione non è sufficiente
20 aumentare i tempi di reazione o la temperatura, ma si è rivelato opportuno procedere con una fase di bleaching **12** attraverso l'utilizzo di un ossidante alcalino **14**. L'ossidante preferito è il perossido di idrogeno H₂O₂ in ambiente basico (alcaline hydrogen peroxide, AHP).

Di conseguenza, si procede dissolvendo 1,6 ml di H₂O₂ (a 130 volumi, titolo 35 g/100 g) concentrato in 30 ml di acqua deionizzata e si porta il pH a un valore di 11,5 tramite una
25 soluzione 5M di idrossido di sodio NaOH. In questa soluzione viene disperso il residuo solido cellulosico **10** ottenuto nella fase precedente. Con la fase di bleaching **12**, si riesce a sbiancare completamente la cellulosa, conseguenza del completamento della dissoluzione della lignina. Inoltre, si ottiene un'ulteriore depolimerizzazione della cellulosa, cioè una cellulosa parzialmente depolimerizzata che grazie alla sua idrofilia è finemente dispersa nell'acqua.
30 Rimane una piccola parte (7%) di un residuo cellulosico cristallino non depolimerizzato che

viene separato tramite decantazione **16**. La cellulosa cristallina viene riprocessata, inserendola nel processo al punto **6**, allo scopo di diminuire il suo grado di cristallizzazione. Si procede con la filtrazione **18** della dispersione che fornisce un solido **20** e un filtrato **22**. Le due tipologie di cellulosa rappresentano una cellulosa chimicamente purificata (CPC) da emicellulosa e lignina, che si suddivide in una cellulosa chimicamente purificata depolimerizzata parzialmente (CPC-DP) **20** e in una cellulosa chimicamente purificata cristallina CPC-C **16**.

Riassumendo, il recupero della cellulosa chimicamente purificata si compone in due fasi:

- (a) la delignificazione con NaOH al 3 % (p/p) a 70°C per 2 ore; e
- (b) il bleaching con 2% (p/p) di H₂O₂/NaOH a pH 11,5 per 2 ore a 70°C.

Con il suddetto procedimento si riesce a recuperare completamente la cellulosa, costituita principalmente dalla componente depolimerizzata (93% sulla cellulosa totale) e da 7% di cellulosa cristallina. La cellulosa parzialmente depolimerizzata viene sottoposta a una fase di produzione di cellulosa nanofibrillata NFC:

La cellulosa chimicamente purificata **20** ottenuta dopo la fase di bleaching **12** viene dispersa in acqua **24** e viene solubilizzata/depolimerizzata ulteriormente tramite un semplice disgregatore **26**. Il risultato è la realizzazione di una dispersione/sospensione di nanofibrille di cellulosa in acqua **28**.

Il filtrato **30** della filtrazione **8** dopo la delignificazione alcalina **6** e il filtrato **22** della filtrazione **18** dopo il bleaching **12** servono poi al recupero della lignina e dell'emicellulosa:

I filtrati dalla delignificazione alcalina (filtrato marrone) **30** e della fase del bleaching (filtrato trasparente giallognolo) **22** vengono ulteriormente trattati e inizialmente concentrati (al volume iniziale di reazione) per rendere più facile la precipitazione della lignina e dell'emicellulosa. Le soluzioni risultanti sono rispettivamente costituite da monomeri di lignina, di emicellulosa e in piccola misura da prodotti di derivazione degli zuccheri. Il colore delle soluzioni è dovuto principalmente alla presenza dei monomeri di lignina più o meno concentrati (colore più o meno marrone).

La soluzione residua dalla fase di delignificazione alcalina **30** viene trattata con una soluzione di acido cloridrico HCl **32** per far precipitare la lignina **34** fino a pH = 1,5 e sottoposta a centrifuga **36** per recuperare agevolmente il precipitato, la lignina **37** (che può essere essiccata

con bilancia termica). In alternativa all'acido cloridrico, si potrebbe utilizzare, per esempio, anche l'acido solforico H₂SO₄.

La soluzione risultante dalla fase di bleaching **12** viene acidificata **38** fino a pH = 1,5 e centrifugata **40**, risulta una quantità irrilevante di lignina (< 1 mg) **42**.

5 Per il recupero dell'emicellulosa, si procede concentrando ulteriormente le soluzioni deliberate **39** e **43** dai precipitati **37** e **42** e si porta il pH a un valore di 5,5 utilizzando una soluzione 5 M di idrossido di sodio, nei passi rispettivamente **44** e **46**. Il risultato è una diminuzione della solubilità dell'emicellulosa che rendeva le soluzioni torbide. Dalle sospensioni ottenute viene fatto precipitare con due volumi di etanolo (95% v/v), cioè aggiungendo un volume di etanolo
10 che corrisponde al doppio del volume della sospensione, nei passi **48** e **50**, l'emicellulosa viene poi separata tramite centrifuga **49**, **51**. Le soluzioni restanti **56** e **58** non contengono materiale cellulosico in quantità significative, ma sono costituite da monomeri di lignina, di emicellulosa e in piccola misura da prodotti di derivazione degli zuccheri. Il colore delle soluzioni è dovuto principalmente dalla presenza di monomeri di lignina più o meno concentrati. Colori più scuri
15 di soluzioni sono dovuti a una maggiore concentrazione di monomeri di lignina.

L'emicellulosa recuperata **52**, **54** viene essiccata con bilancia termica. L'emicellulosa viene recuperata con una maggiore quantità dal filtrato **30** della fase di delignificazione alcalina. L'emicellulosa recuperata si presenta di colorazione marroncina a causa del contenuto di lignina associata caratteristica del precipitato di emicellulosa recuperato dalla fase di delignificazione.

20 Le soluzioni restanti **56** e **58**, dopo la rimozione delle tre componenti lignina, cellulosa chimicamente purificata ed emicellulosa, sono costituite principalmente dalla lignina acido solubile rappresentata da molecole a basso peso molecolare o derivati idrofilici della lignina che determinano la colorazione giallastra della soluzione, con una maggiore concentrazione nella soluzione **58** risultante dal processo alcalino di delignificazione. Tale colorazione
25 giallastra non è imputabile alla decomposizione della cellulosa, ciò è stato verificato sperimentalmente applicando la fase di bleaching sulla cellulosa cristallina commerciale e riscontrando nessuna variazione di colorazione della soluzione.

Riassumendo, il recupero della lignina viene realizzato facendo precipitare quest'ultima a pH = 1,5 (**32**, **38g**), il recupero dell'emicellulosa, invece, viene realizzato portando la relativa
30 soluzione a un pH = 5,5 (**46**, **46**) e aggiungendo due volumi di etanolo (**48**, **50**) in modo da

favorirne la precipitazione. Infine, si aggiunge l'ultima fase della saccarificazione del legno, e precisamente la

fase di sintesi di glucosio dalla cellulosa nanofibrillata:

La cellulosa nanofibrillata **28** viene trasferita in un autoclave e sottoposta a 120°C a una idrolisi **60** in presenza di una resina a scambio ionico acida (Amberlyst 15®) (catalizzatore acido) dove dopo separazione del solido, la resina può essere recuperata, riciclata e reintrodotta **62** nel processo di idrolisi **60** che produce dalla cellulosa zuccheri in forma di glucosio **64**.

L'idrolisi è stata condotta sperimentalmente caricando il tubetto di reazione con 100 mg di cellulosa nanofibrillata, 100 mg di catalizzatore e 1 ml di acqua. Dopo omogeneizzazione, il reattore viene posto in un autoclave in modo da portare la temperatura di reazione a 120°C. La presenza di glucosio viene riscontrata già dopo un'ora di reazione, e dopo cinque ore non si riscontra più nessun aumento della resa di glucosio. Al termine della prima esecuzione di reazione (dopo cinque ore), il catalizzatore solido viene filtrato e separato dal residuo di cellulosa e viene rigenerato prima del suo riutilizzo. Dopodiché il catalizzatore viene reinserto nel tubetto di reazione insieme al residuo di cellulosa e in seguito si riconduce la reazione per altre cinque ore a 120°C.

Questo modo operativo reiterato porta a una quasi completa conversione della cellulosa nanofibrillata in glucosio con una irrilevante formazione di prodotti indesiderati. La sospensione diventa chiara e trasparente. Anche il processo del bleaching **12** può essere ripetuto sul solido ottenuto per completare la separazione dell'emicellulosa.

L'invenzione ha quindi raggiunto tutti gli obiettivi posti. L'invenzione, tra l'altro, ha fornito un procedimento per la produzione di zuccheri da materiale lignocellulosico in grado di offrire la massima quantità di zuccheri estraibile a elevata purezza, cioè senza sostanze non sfruttabili o inibitorie per i processi di fermentazione alcolica e questo in un processo veloce, scalabile e a basso impatto ambientale ed energetico. Con l'invenzione si è in grado di degradare ovvero separare la lignina e l'emicellulosa dalla cellulosa senza danneggiare alcun componente, grazie ad un trattamento chimico selettivo e poco invasivo. È stata minimizzata la degenerazione a sostanze non sfruttabili o inibitorie dei processi di fermentazione alcolica, questo anche grazie all'utilizzo dei protoni catalitici. In ogni fase del procedimento sono ottenibili brevi tempi di

reazione. In più, si è riusciti a proporre un procedimento utile a eliminare la produzione di scarti di lavorazione tossici ad elevato impatto.

In fase esecutiva, ai procedimenti di frazionamento, idrolisi e saccarificazione, oggetto dell'invenzione, potranno essere apportate ulteriori modifiche o varianti esecutive non descritte.

- 5 Qualora tali modifiche o tali varianti dovessero rientrare nell'ambito delle rivendicazioni che seguono, si dovranno ritenere tutte protette dal presente brevetto.

RIVENDICAZIONI

1) Procedimento di frazionamento di biomassa lignocellulosica (A) comprendente le seguenti fasi:

- 5 (i) delignificazione in ambiente basico della biomassa lignocellulosica (A-1, 6); e
 (ii) trattamento di bleaching (A-2, 12) con un ossidante in ambiente basico (14) del solido (10) risultante dalla fase (i).

2) Procedimento di frazionamento di biomassa lignocellulosica (A) secondo la rivendicazione

10 **1 caratterizzato dal fatto** che la fase (i) comprende le seguenti fasi:

- (i-1) triturazione e opzionalmente vagliatura di biomassa lignocellulosica;
 (i-2) sospensione della biomassa tritata (2) in acqua e realizzazione di un ambiente basico (4), preferibilmente aggiungendo idrossido di sodio NaOH in una concentrazione da 1 a 3 % in peso, più preferibilmente una concentrazione di circa 3% in peso, per
15 ottenere la delignificazione in ambiente basico (6);
 (i-3) separazione (8) delle fasi solida e liquida ottenute nella fase (i-2), preferibilmente tramite filtrazione, ottenendo una prima fase solida (10) e una prima fase liquida (30).

3) Procedimento di frazionamento di biomassa lignocellulosica (A) secondo la rivendicazione

20 **2 caratterizzato dal fatto** che detto primo solido (10) della fase (i-3) viene sottoposto nella fase (ii) al trattamento di bleaching (12) con un ossidante in ambiente basico (14) in cui il primo solido (10) viene disperso in una soluzione di perossido di idrogeno H_2O_2 in ambiente basico (14), preferibilmente alcalino, in cui la percentuale in peso del H_2O_2 corrisponde a 1 – 2 % e il pH viene regolato a 11,0 a 11,6.

25

4) Procedimento di frazionamento di biomassa lignocellulosica (A) secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti **caratterizzato dal fatto** che detta fase (ii) è seguita da una fase (iii) di separazione (18) della miscela ottenuta nella fase (ii) in una seconda fase solida (20) e una seconda fase liquida (22), e da una fase

(iv) in cui detto secondo solido (20) viene trasformato tramite disgregazione (26), preferibilmente in una dispersione in acqua (24), in cellulosa nanofibrillata (28).

5) Procedimento di frazionamento di biomassa lignocellulosica (A) secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 2 a 4 **caratterizzato dal fatto** che detta prima (30) e/o detta seconda fase liquida (22) viene/vengono acidificata/e (32, 38), preferibilmente a un pH < 2, più preferibilmente a un pH di circa 1,5, per provocare la precipitazione di lignina (34, 40) e che detta lignina viene separata (37, 42), preferibilmente tramite centrifuga, rispettivamente da una terza (39) e/o quarta fase liquida (43).

10

6) Procedimento di frazionamento di biomassa lignocellulosica (A) secondo la rivendicazione 5 **caratterizzato dal fatto** che il pH di detta terza (39) e/o detta quarta (43) fase liquida viene alzato (44, 46), preferibilmente a circa 5,5, e che viene aggiunto un solvente meno polare dell'acqua (48, 50), preferibilmente etanolo, per far precipitare l'emicellulosa (52, 54) che opzionalmente viene separata (49, 51).

15

7) Procedimento di idrolisi di cellulosa (B) comprendente la fase di sospensione della cellulosa, preferibilmente la cellulosa nanofibrillata ottenuta secondo la rivendicazione 4, insieme a un materiale solido insolubile in acqua contenente gruppi acidi, preferibilmente una resina a scambio ionico acida, in un solvente acquoso, preferibilmente acqua, che risulta nell'idrolisi della cellulosa (60) trasformandosi in glucosio (64).

20

8) Procedimento di idrolisi di cellulosa secondo la rivendicazione 7 **caratterizzato dal fatto** che detto materiale solido insolubile in acqua contenente gruppi acidi viene separato dalla soluzione di idrolisi, rigenerato e re-introdotta (62) nel processo di idrolisi.

25

9) Procedimento di saccarificazione di biomassa lignocellulosica comprendente

(a) il frazionamento della biomassa lignocellulosica (A) secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 4 a 6; e

30

(b) l'idrolisi della cellulosa (B) secondo la rivendicazione 7 o 8.

10) Uso del glucosio (64) ottenuto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 4, 7 o 8 per la fermentazione alcolica o la produzione di polimeri.

5 Per incarico

Il Mandatario

Vera Ute Barbara Munchow

(N° iscr. 1399B)

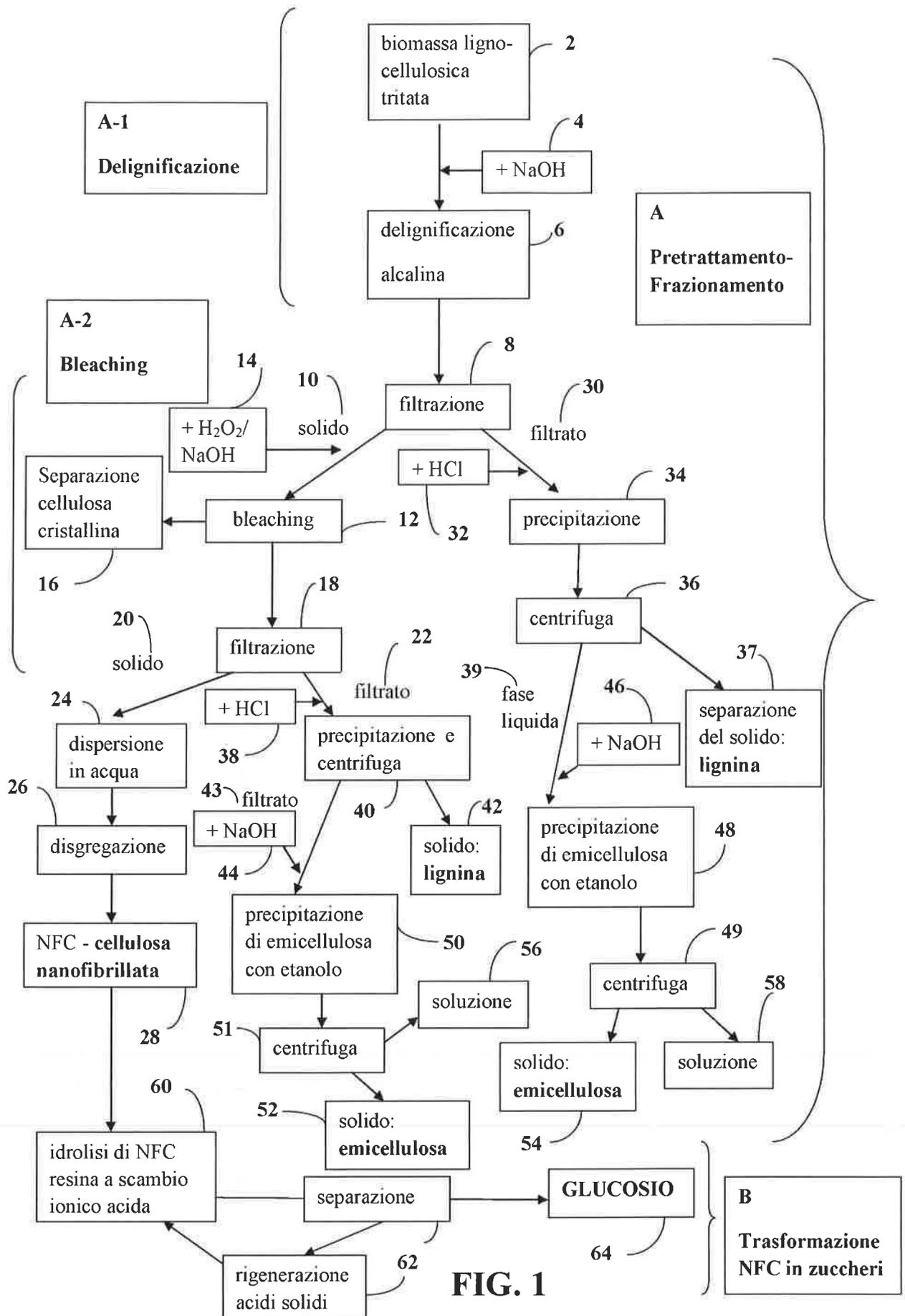


FIG. 1