

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201692199** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2017.05.31

(22) Дата подачи заявки
2015.06.03

(51) Int. Cl. *C12P 7/10* (2006.01)
C12P 19/02 (2006.01)
C12P 19/14 (2006.01)
C08B 1/00 (2006.01)
C08B 37/14 (2006.01)

**(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЭТАНОЛА ПУТЕМ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОГО
ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА ЦЕЛЛЮЛОЗЫ И ГЕМИЦЕЛЛЮЛОЗ ИЗ
ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ**

(31) 1455095

(32) 2014.06.05

(33) FR

(86) PCT/EP2015/062399

(87) WO 2015/185639 2015.12.10

(71) Заявитель:
**КОМПАНИ ЭНДЮСТРИЕЛЬ ДЕ ЛЯ
МАТЬЕР ВЕЖЕТАЛЬ - КИМВ (FR)**

(72) Изобретатель:
**Бенжеллун Млайх Бушра, Дельма
Мишель (FR)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к способу производства этанола, включающему стадию предварительной обработки лигноцеллюлозного растительного сырья, которая включает стадии, представляющие собой деструктурирование лигноцеллюлозного растительного сырья, с последующим разделением, с одной стороны, целлюлозы (С6), которая затем может быть гидролизована (и ферментирована для производства этанола), с другой стороны, гемицеллюлоз, которые затем могут быть гидролизованы, и лигнинов, отличающемся тем, что гидролиз целлюлозы и гемицеллюлоз проводят последовательно в соответствии со следующими стадиями, представляющими собой: i) проведение ферментативного гидролиза целлюлозы с помощью по меньшей мере одного фермента в течение первого периода с целью получения промежуточного гидролизата; ii) добавление гемицеллюлоз в указанный промежуточный гидролизат; iii) продолжение ферментативного гидролиза смеси до получения конечного гидролизата в конце всего периода ферментативного гидролиза.

A1

201692199

201692199

A1

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЭТАНОЛА ПУТЕМ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОГО ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА ЦЕЛЛЮЛОЗЫ И ГЕМИЦЕЛЛЮЛОЗ ИЗ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ

Настоящее изобретение относится к способу получения этанола, включающему предварительную обработку лигноцеллюлозного растительного сырья (ЛЦРС) (MPVL) с целью разделения целлюлозы, гемицеллюлоз и лигнинов, и включающему ферментативный гидролиз C5 полисахаридов (пентоз) и C6 полисахаридов (гексоз).

Как правило, состав различных источников биомассы отличается большой гетерогенностью в отношении строения и структур, но при этом также имеет место некоторая степень постоянства, а именно наличие трех основных макромолекулярных соединений, целлюлозы, гемицеллюлоз и лигнинов.

Целлюлоза представляет собой линейный полимер глюкозы и, следовательно, потенциальный источник ферментируемых сахаров; гемицеллюлозы представляют собой гетерополимеры, наиболее представленными мономерами которых являются C5 сахара, содержащие пять атомов углерода (ксилоза, арабиноза), которые легко метаболизируются многочисленными микроорганизмами; в то время как лигнины представляют собой сложные трехмерные гетерополимеры, естественное разложение которых является длительным сложным процессом и для которых, как принято считать в настоящее время, была бы иллюзорной попытка создания какого-либо промышленного способа их обработки путем гидролиза.

Особенности лигноцеллюлоз предполагают, особенно для целей, например, получения этанола из ферментируемых сахаров, упомянутых выше, проведение предварительной обработки для решения проблемы доступности целлюлозы для ферментативных реагентов, эта обработка предназначена, в частности, для растворения гемицеллюлоз и лигнинов.

Настоящий заявитель CIMV является компанией, специализирующейся на обработке и использовании лигноцеллюлозного растительного сырья.

В этом отношении, настоящий заявитель является заявителем и обладателем различных патентных заявок и патентов, относящихся к способу получения волокнистого сырья, лигнинов, сахара и

уксусной кислоты путем фракционирования лигноцеллюлозного растительного материала в среде муравьиной кислоты/уксусной кислоты (WO-A1-00/68494).

Настоящий заявитель также является обладателем патентных заявок и/или патентов, относящихся к способу предварительной обработки лигноцеллюлозного растительного материала для получения биоэтанола (WO-A2-2010/006840).

Такой способ предварительной обработки делает возможным, в частности, получение из лигноцеллюлозного растительного сырья (ЛЦРС) в рамках экономических производственных условий, во-первых, субстрата, состоящего по существу из разбитой на волокна целлюлозы, что является оптимальным условием для ее последующего ферментативного гидролиза, и во-вторых, субстрата, состоящего из сахарной патоки, образованной из гемицеллюлоз, гидролизаты которых не содержат фурфурол.

Таким образом, заявителем настоящей заявки предложен способ получения биоэтанола из лигноцеллюлозного растительного сырья, включающий последовательные стадии предварительной обработки ЛЦРС, ферментативного гидролиза предварительно обработанного материала и спиртовой ферментации продуктов, полученных на стадии гидролиза.

Заявителем настоящей заявки, в частности, предложен способ получения биоэтанола из лигноцеллюлозного растительного сырья, включающий последовательные стадии:

- а) предварительной обработки лигноцеллюлозного растительного сырья для разделения целлюлозы, гемицеллюлоз и лигнинов, содержащихся в этом лигноцеллюлозном растительном сырье, при этом предварительная обработка включает следующие последовательные стадии, представляющие собой:

(i) деструктурирование лигноцеллюлозного растительного сырья путем инкубации его в присутствии смеси, содержащей муравьиную кислоту, уксусную кислоту и воду, при температуре реакции, составляющей от 95°C до 110°C;

(ii) последующее разделение при атмосферном давлении и до проведения какого-либо ферментативного гидролиза:

* с одной стороны, твердой фазы, состоящей по существу из указанной целлюлозы (С6 сахаров), которая может быть впоследствии гидролизована и ферментирована для производства этанола;

* и с другой стороны, жидкой фазы, содержащей, в частности, в водном растворе муравьиную кислоту, уксусную кислоту, лигнины и гемицеллюлозы (С5 сахара);

- b) ферментативного гидролиза указанной твердой фазы;

- c) спиртовой ферментации продуктов, полученных на указанной стадии гидролиза, которые могут быть ферментированы для производства этанола.

Данный способ, в частности, подробно описан в документе EP-2 235 254 (WO-A1-2009/0927498).

Данный способ представляет подход, который радикально отличается от подхода предшествующего уровня техники, заключающийся в проведении разделения трех биополимеров путем сольволиза в среде кислоты/воды, что делает возможным отделение линейных, не рекомбинированных низкомолекулярных лигнинов с высокой эффективностью, до любого гидролиза, с последующей ферментацией целлюлозы и гемицеллюлоз.

Данный способ делает возможным достижение промышленных уровней производительности независимо от природы используемых растений и, таким образом, является особенно полезным в случае однолетних растений, открывая новый путь их использования, в частности, в случае соломы зерновых культур, а также жома сахарного тростника или жома сахарного сорго; указанное применение является дополнением к применению, уже предложенному заявителем в международной заявке WO-A1-00/68494, которая относится к способу получения волокнистого сырья, лигнинов, сахара и уксусной кислоты путем фракционирования лигноцеллюлозного растительного материала в среде муравьиной кислоты/уксусной кислоты.

Например, количество целлюлозы, полученной из растительного материала (например, из соломы пшеницы) с помощью способа «рафинирования» компании CIMV, и количество глюканов, присутствующих после ферментативного гидролиза, являются

следующими:

- выход целлюлозной фракции в способе компании CIMV: 48% от биомассы (в случае соломы пшеницы), состоящей на 88% из целлюлозы, то есть, 42% биомассы (по массе);
- выход глюкозы: 44% (массовое отношение) биомассы;
- выход целлюлозного спирта: 21% (массовое отношение) биомассы.

Поток продукта, содержащий гемицеллюлозы, отделенные способом рафинирования, предложенным компанией CIMV, потенциально содержит примерно 20% ферментируемых сахаров.

Данные изобретения (способы компании CIMV) направлены на улучшение условий промышленного производства этанола из ЛЦРС и, в частности, гидролиза целлюлозы для получения ферментируемых сахаров.

Как правило, и как известно, в способах получения этанола из ЛЦРС учитывают несколько параметров.

Среди этих параметров особое внимание уделяется тому, что лигнин может быть ингибитором ферментов, и что лигноцеллюлозная матрица должна быть предварительно обработана для перевода целлюлозы и гемицеллюлоз в гидролизуемое состояние.

Вследствие их химического состава, лигнинные полимеры являются нерастворимыми и обладают высокой реакционной способностью.

Как следствие, присутствующие лигнины укрепляют целлюлозно-гемицеллюлозную сеть и препятствуют проникновению и действию ферментов, для которого необходимо присутствие воды.

Ферментативный гидролиз целлюлозы является рекомендованным подходом для получения ферментируемых сахаров в силу разных причин и, в частности, потому что результаты экономических оценок свидетельствуют в пользу ферментативного гидролиза при сравнении с химическим гидролизом.

Кроме того, ферментативный гидролиз приводит к образованию небольшого количества сточных вод, подлежащих обработке, и не создает проблем с коррозией.

Фактический ферментативный гидролиз проводят, просто создавая контакт предварительно обработанного растительного

сырья с ферментативным раствором, обеспечивая гомогенность суспензии и поддержание оптимальных условий, при этом условия включают, например, для целлюлаз из *T. reesei*, температуру от 45°C до 50°C и значение pH примерно 4,8.

Время действия ферментов зависит от количества используемых ферментов и от специфической активности ферментов.

Во время ферментативного гидролиза редуцирующие сахара по существу высвобождаются в форме глюкозы.

Ферменты, принимающие участие в расщеплении целлюлозы, которые обычно называют целлюлазами, бывают различных типов и имеют различное происхождение, и их характеризуют, в частности, по их активности.

Стоимость целлюлаз относительно высока и является фактором, по оценкам, составляющим наибольшую часть затрат при производстве биоэтанола из ЛЦРС.

Вследствие этого, были предприняты значительные усилия для определения механизма ферментативного гидролиза с целью его усовершенствования; он представляет собой сложный процесс действия растворимых белков на нерастворимый и «невосприимчивый» субстрат.

Другим параметром эффективности и рентабельности способа ферментативного гидролиза является время гидролиза, которое может быть относительно длительным, от 48 до 72 часов.

Для повышения эффективности ферментативного гидролиза целлюлозы заявителем CIMV в документе WO-A2-2012/049054 был предложен способ получения этанола, отличающийся тем, что он включает, до стадии ферментативного гидролиза целлюлозы, стадию частичного удаления лигнинов с тем, чтобы добиться остаточного общего уровня лигнинов, выраженного в процентах по массе, который отличен от нуля и который входит в диапазон, определяемый нижним пределом и верхним пределом, которые, соответственно, составляют 0,30% и 4%. Общая эффективность данного способа является аналогичной или практически равной эффективности производства теоретического максимального уровня этанола из ЛЦРС и, более того, данная эффективность не меняется

в зависимости от того, включает ли общий процесс сначала стадию ферментативного гидролиза в соответствии со способом, а затем стадию ферментации, или процессы гидролиза и ферментации (способ ООФ (SSF)) проводят одновременно.

Такая одинаковая эффективность является следствием того, что ферментативный гидролиз целлюлозы в соответствии с данным способом не приводит к образованию ингибиторов ферментации. Кроме того, показано, что преимущества данного способа (общий уровень лигнинов и специфические условия повторного подкисления) остаются неизменными, то есть, имеют тот же характер и те же показатели, независимо от используемых целлюлаз и независимо от того, используют ли целлюлазы с меньшей или большей эффективностью.

После того, как целлюлоза гидролизована до глюкозы путем ферментативного гидролиза, глюкозу ферментируют таким же образом, как, например, глюкозу, полученную из крахмала.

Известные проблемы, характерные для использования ЛЦРС в качестве исходного субстрата, сохраняются, например, возможное присутствие токсичных соединений и ингибиторов из-за гемицеллюлоз и лигнина, а также возможность проведения ферментативного гидролиза и ферментации на одной стадии.

Ингибиторы, присутствующие в гидролизатах, возникают вследствие расщепления сахаров (до фурфурола), из групп, имеющих в гемицеллюлозах, и из лигнина.

Присутствие ингибиторов зависит от природы ЛЦРС и от условий его предварительной обработки.

Помимо ингибирования ферментов фурфуролом, были отмечены комбинированные эффекты разных ингибиторов.

Одновременное проведение, в одном и том же реакторе, операций гидролиза и ферментации в соответствии со способом, называемым ООФ (одновременное осахаривание и ферментация), уже было предложено, первое преимущество указанного способа является очевидным, поскольку для него нужен лишь один аппарат, однако указанный способ требует, чтобы ферменты и дрожжи работали в одних и тех же физико-химических условиях.

Однако оптимальные для них значения температуры

относительно сильно различаются (30°C для дрожжей и 50°C для целлюлаз).

Таким образом, разработка ООФ влечет за собой создание штаммов дрожжей, способных к ферментации при гораздо более высокой температуре.

Что касается одновременного проведения ферментации и гидролиза в соответствии со способом «ООФ» («одновременное осахаривание и ферментация»), который заключается в проведении ферментативного гидролиза и спиртовой ферментации на одной стадии, его основными преимуществами являются уменьшение денежных вложений за счет отмены операций, необходимых для предварительного проведения ферментативного гидролиза, и отсутствие ингибирования целлюлазы глюкозой, которая потребляется ферментирующими микроорганизмами по мере ее появления.

Это приводит к повышению уровней и скоростей гидролиза и общей продуктивности производства этанола.

Кроме того, снижается риск микробного загрязнения богатого глюкозой гидролизата.

Однако стало очевидно, что преимущества способа ООФ, в частности, с экономической точки зрения, требуют оптимизации некоторых аспектов, в частности, концентрации исходных твердых веществ, для достижения высоких концентраций этанола.

В соответствии с другой концепцией коферментации, можно предложить объединение на одной стадии осахаривания и коферментации C5 сахаров, полученных в результате предварительной обработки, с C6 сахарами, полученными в результате ферментативного гидролиза.

Однако такой способ ООКФ (SSCF) (одновременное осахаривание и коферментация) требует устранения механизмов, имеющих практически у всех микроорганизмов для того, чтобы в присутствии смеси сахаров систематически стимулировалось усвоение глюкозы до усвоения других сахаров.

Таким образом, из возможных сочетаний различных вариантов, известных из предшествующего уровня техники, естественным

образом возникают две разные схемы промышленного процесса.

Первая схема предполагает отделение С5 сахаров в конце стадии предварительной обработки, этот поток С5 сахаров ферментируют отдельно, и одну фракцию, необязательно, можно использовать для получения целлюлаз, нерастворимую фракцию (целлюлоза+лигнин), получаемую в результате предварительной обработки, можно обрабатывать способом ООФ.

Вторая схема, очевидно намного более простая, основанная на способе ООКФ, требует наличия микроорганизма (или смеси микроорганизмов), способного ферментировать С5 и С6 сахара одновременно и с абсолютно одинаковой эффективностью.

Различия в скоростях метаболизации могли бы вызвать необходимость в продлении ферментации до истощения наиболее медленно метаболизируемого сахара, тем самым приводя к недостаточно эффективному использованию всего промышленного оборудования для производства, в частности, для ферментации в случае производства биоэтанола.

Для того, чтобы сделать решительный шаг в вопросе технологичности и рентабельности таких способов, по изобретению предложен новый способ, имеющий в основе сначала уже известную стадию предварительной обработки, приводящую к разделению целлюлозы, гемицеллюлоз и лигнинов, а затем, как ни странно, последовательный гидролиз С6 и С5 полисахаридов, приводящий к получению конечного гидролизата (или когидролизата), в частности, который может быть ферментирован для производства биоэтанола или любого другого продукта в зависимости от используемых дрожжей.

С этой целью по настоящему изобретению предложен способ производства продукта, такого как, например, биоэтанол, из лигноцеллюлозного растительного сырья (ЛЦРС), включающий стадии:

- а) предварительной обработки лигноцеллюлозного растительного сырья для разделения целлюлозы (С6), гемицеллюлоз (С5) и лигнинов, содержащихся в данном лигноцеллюлозном растительном сырье, которая включает последовательные стадии, представляющие собой деструктурирование лигноцеллюлозного растительного сырья, последующее разделение, с одной стороны,

целлюлозы (C6), которая затем может быть гидролизована (и ферментирована для производства биоэтанола), и с другой стороны, гемицеллюлоз (C5 олигосахаридов), которые затем могут быть гидролизованы;

- b) ферментативного гидролиза целлюлозы (C6);
- c) ферментативного гидролиза гемицеллюлоз (C5);

отличающийся тем, что гидролиз целлюлозы и гемицеллюлоз проводят последовательно в соответствии со следующими последовательными стадиями, представляющими собой:

- i) проведение ферментативного гидролиза целлюлозы (C6) с помощью по меньшей мере одного фермента (целлюлазы) в течение первого периода (T1) с целью получения промежуточного гидролизата;

- ii) добавление гемицеллюлоз (C5) в указанный промежуточный гидролизат;

- iii) продолжение ферментативного гидролиза смеси до получения конечного гидролизата в конце всего периода (T2) ферментативного гидролиза.

В качестве примера, для одной метрической тонны соломы, представляющей собой лигноцеллюлозное растительное сырье, способ по изобретению позволяет увеличивать примерно на 20% количество произведенного этанола.

Таким образом, налицо преимущество «объединения» последовательным и контролируемым образом двух изначально разных потоков, получаемых в результате рафинирования биомассы, с одновременным повышением общего выхода и сокращением части оборудования и эксплуатационных расходов производственного блока, который был бы задействован при раздельной обработке двух потоков сахарных продуктов.

Предпочтительно и, в частности, чтобы иметь возможность с легкостью осуществлять процесс, избегая проблем с вязкостью и в то же время обрабатывая целлюлозу с высоким содержанием твердых веществ, указанная стадия i) ферментативного гидролиза целлюлозы включает:

- i1) введение указанного по меньшей мере одного первого фермента в реактор;

i2) добавление первой части целлюлозы до получения смеси, в которой содержание твердых веществ (ТВ) (MS) составляет от 10% до 15% по массе;

i3) проведение гидролиза смеси в течение периода времени от шести часов до пятнадцати часов;

i4) добавление оставшейся части целлюлозы в несколько этапов до достижения конечного содержания твердых веществ (ТВ) от 20% до 25% по массе.

Указанный первый период (T1) ферментативного гидролиза целлюлозы составляет от двадцати часов до сорока часов в зависимости от используемого фермента или смеси ферментов.

Указанную первую стадию i) ферментативного гидролиза целлюлозы проводят, например, при температуре от 45°C до 55°C.

Содержание твердых веществ целлюлозы составляет от 10% до 25%.

Содержание твердых веществ целлюлозы предпочтительно составляет более 20%.

Указанную стадию ii) добавления гемицеллюлоз проводят в один этап после введения всей подлежащей гидролизу целлюлозы.

Указанная стадия ii) добавления гемицеллюлоз дополнительно включает одновременное добавление другого фермента, в частности, способного гидролизовать гемицеллюлозы.

Указанную стадию iii), представляющую собой продолжение ферментативного гидролиза, проводят при температуре от 45°C до 55°C.

Содержание твердых веществ гемицеллюлоз составляет от 20% до 35% по массе.

Общий период (T2) последовательного ферментативного гидролиза целлюлозы и гемицеллюлоз составляет от сорока восьми часов до семидесяти двух часов.

Указанный по меньшей мере один фермент представляет собой фермент, способный гидролизовать целлюлозу, в частности, такую целлюлазу, как, например, Cellic CTec™ plus Htec™ от компании Novozyme или CMAX™ от компании Dyadic.

Указанный по меньшей мере один фермент представляет собой

смесь ферментов, способных гидролизовать целлюлозу и гемицеллюлозы, таких как, например, Cellic CTecTM plus HtecTM от компании Novozyme или CMAXTM от компании Dyadic.

Указанный другой фермент представляет собой фермент, способный гидролизовать гемицеллюлозы, такой как, например, Cellic HtecTM от компании Novozyme или CMAXTM от компании Dyadic.

Способ включает стадию по меньшей мере частичного удаления лигнинов из фазы, содержащей гемицеллюлозы, до указанной стадии ii) добавления гемицеллюлоз (C5) в указанный промежуточный гидролизат.

Способ по изобретению включает следующие последовательные стадии, представляющие собой:

(j) деструктурирование лигноцеллюлозного растительного сырья путем инкубации его в присутствии смеси, содержащей муравьиную кислоту, уксусную кислоту и воду, при температуре реакции от 95°C до 110°C;

(jj) последующее разделение при атмосферном давлении и до проведения любого гидролиза:

* с одной стороны, твердой фазы, состоящей по существу из указанной целлюлозы, представляющей собой первый косубстрат, которая затем может быть гидролизована; и

* с другой стороны, жидкой фазы, содержащей, в частности, в водном растворе, муравьиную кислоту, уксусную кислоту, лигнины и гемицеллюлозы, представляющие собой второй косубстрат, которые затем могут быть гидролизованы после отделения кислот и лигнинов.

В случае производства биоэтанола способ включает дополнительную стадию спиртовой ферментации конечного гидролизата.

Как указано выше в качестве примера, для одной метрической тонны соломы, представляющей собой лигноцеллюлозное растительное сырье, способ по изобретению позволяет увеличивать примерно на 20% количество произведенного этанола.

Путем гидролиза двух потоков C6 и C5 сахаров можно использовать сахара, содержащиеся в двух потоках продукта, и

получать удовлетворительные выходы ферментации.

Было изучено несколько возможностей использовать эти C6 и C5 сахара:

а) Гидролиз и ферментация разделенных C6 и C5 потоков или технологических маршрутов;

б) Раздельный гидролиз двух C6 и C5 потоков, с последующей коферментацией двух когидролизатов;

с) Когидролиз C6 и C5 потоков и ферментация когидролизата.

а) Гидролиз целлюлозы+ферментация целлюлозы; гидролиз и ферментация C5 олигосахаридов (сахарный сироп)+ферментация ксилозы.

а-і) гидролиз и ферментация целлюлозы в этанол с высокой концентрацией (выше 20%):

- гидролиз с выходом 95%

- ферментация глюкозы в этанол с коэффициентом преобразования 0,48.

Таким образом достигается выход в общей сложности **0,21 кг** этанола на кг биомассы.

а-іі) гидролиз и ферментация C5 сиропов: гидролиз олигосахаридов, содержащихся в сахарных сиропах, можно проводить при менее чем 20% сухого вещества; выход гидролиза олигосахаридов составляет менее 50%: смотри фигуру 1.

Однако поток C5 сахаров не поддается или плохо поддается ферментации.

Действительно, ферментация этого потока обязательно включает стадию хроматографической очистки, которая позволяет удалять часть ингибиторов дрожжей. Без такой очистки сахарный сироп не поддается ферментации.

В таком случае, из этого следует, что количество этанола, которое может быть произведено, представляет собой количество этанола, получаемое из целлюлозной фракции, то есть составляет 21% от количества биомассы.

Таким образом достигается выход в общей сложности **0,21 кг** этанола на кг биомассы.

б) Два потока раздельно гидролизуют и коферментируют при концентрации 20% сухого вещества (ТВ) для каждого:

Гидролизат целлюлозы	Гидролизат сахарного сиропа	Соотношение C6/C5	Ферментируемые сахара T=0 (г/кг)	Этанол (г/кг)	Выход
ТВ=20%	ТВ=17%	65/35	138	48	0,36

В этом случае количество произведенного этанола, а также концентрация этанола, относительно низки.

Таким образом достигается выход в общей сложности **0,24 кг** этанола на кг биомассы.

с) Когидролиз и коферментация C6 и C5 когидролизатов:

В случае когидролиза сахарный сироп (C5) можно использовать в концентрации более 22% с тем, чтобы получить максимально возможный концентрированный когидролизат; таким образом, количество ферментируемых сахаров, получаемых после когидролиза – в массовом соотношении 65/35 – превышает 180 г/литр и выход этанола составляет примерно 0,47-0,48 г/л.

Смотри фигуру 2.

Таким образом достигается выход в общей сложности **0,265 кг** этанола на кг биомассы, то есть, количество произведенного этанола увеличивается более чем на 20%.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ производства продукта из лигноцеллюлозного растительного сырья (ЛЦРС), включающий стадии:

- а) предварительной обработки лигноцеллюлозного растительного сырья для разделения целлюлозы (С6), гемицеллюлоз (С5) и лигнинов, содержащихся в данном лигноцеллюлозном растительном сырье, данная предварительная обработка включает последовательные стадии, представляющие собой деструктурирование лигноцеллюлозного растительного сырья, последующее разделение, с одной стороны, целлюлозы (С6), которая затем может быть гидролизована (и ферментирована для производства биоэтанола), и с другой стороны, гемицеллюлоз (С5 олигосахаридов), которые затем могут быть гидролизованы;

- б) ферментативного гидролиза целлюлозы (С6);

- с) ферментативного гидролиза гемицеллюлоз (С5);

отличающийся тем, что гидролиз целлюлозы и гемицеллюлоз проводят последовательно в соответствии со следующими последовательными стадиями, представляющими собой:

- i) проведение ферментативного гидролиза целлюлозы (С6) с помощью по меньшей мере одного фермента (целлюлазы) в течение первого периода (Т1) с целью получения промежуточного гидролизата;

- ii) добавление гемицеллюлоз (С5) в указанный промежуточный гидролизат;

- iii) продолжение ферментативного гидролиза смеси до получения конечного гидролизата в конце всего периода (Т2) ферментативного гидролиза.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что стадия i) ферментативного гидролиза целлюлозы включает:

- i1) введение указанного по меньшей мере одного первого фермента в реактор;

- i2) добавление первой части целлюлозы до получения смеси, в которой содержание твердых веществ (ТВ) составляет от 10% до 15% по массе;

- i3) проведение гидролиза смеси в течение периода времени от шести часов до пятнадцати часов;

i4) добавление оставшейся части целлюлозы в несколько этапов до достижения конечного содержания твердых веществ (ТВ) от 20% до 25% по массе.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный первый период (T1) ферментативного гидролиза целлюлозы составляет от двадцати часов до сорока часов.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанную первую стадию i) ферментативного гидролиза целлюлозы проводят при температуре от 45°C до 55°C.

5. Способ по п. 1, отличающийся тем, что содержание твердых веществ целлюлозы составляет от 10% до 25%.

6. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанную стадию ii) добавления гемицеллюлоз проводят в одну стадию, до введения всей целлюлозы.

7. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанная стадия ii) включает одновременное добавление по меньшей мере одного другого фермента.

8. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанную стадию iii), представляющую собой продолжение ферментативного гидролиза, проводят при температуре от 45°C до 55°C.

9. Способ по п. 1, отличающийся тем, что содержание твердых веществ гемицеллюлоз составляет от 20% до 35% по массе.

10. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный общий период (T2) ферментативного гидролиза составляет от сорока восьми часов до семидесяти двух часов.

11. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один фермент представляет собой фермент для гидролиза целлюлозы.

12. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный по меньшей мере один фермент представляет собой смесь ферментов, способных гидролизовать целлюлозу и гемицеллюлозы.

13. Способ по п. 7, отличающийся тем, что указанный другой фермент представляет собой фермент, способный гидролизовать гемицеллюлозы.

14. Способ по п. 1, отличающийся тем, что он включает

стадию по меньшей мере частичного удаления лигнинов из фазы, содержащей гемицеллюлозы, до указанной стадии ii) добавления гемицеллюлоз (C5) в указанный промежуточный гидролизат.

15. Способ по п. 1, отличающийся тем, что он включает следующие последовательные стадии, представляющие собой:

(j) деструктурирование лигноцеллюлозного растительного сырья путем инкубации его в присутствии смеси, содержащей муравьиную кислоту и воду, при температуре реакции от 95°C до 110°C;

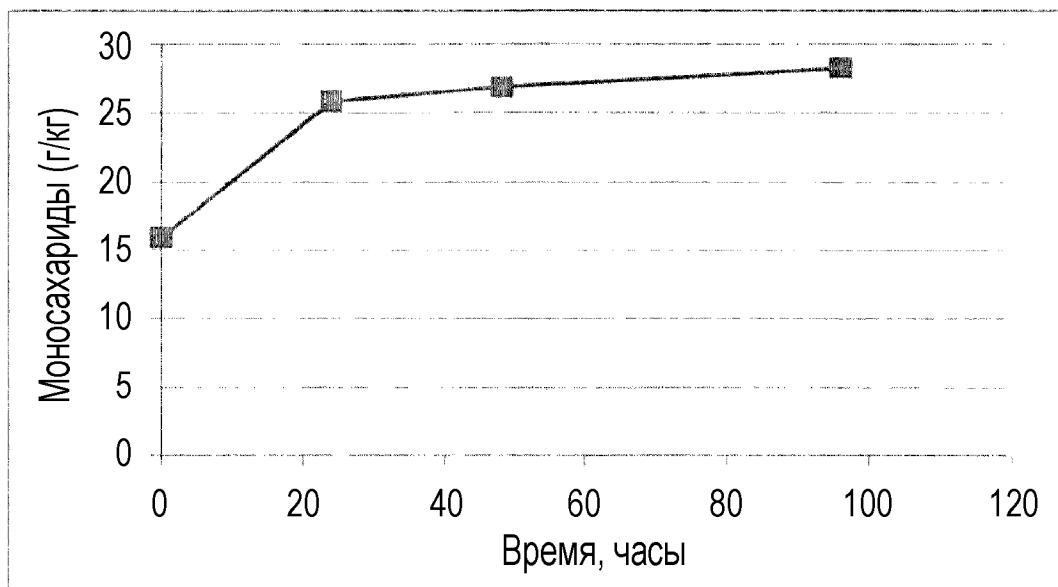
(jj) последующее разделение при атмосферном давлении и до проведения любого гидролиза:

* с одной стороны, твердой фазы, состоящей по существу из указанной целлюлозы, представляющей собой первый косубстрат, которая затем может быть гидролизована; и

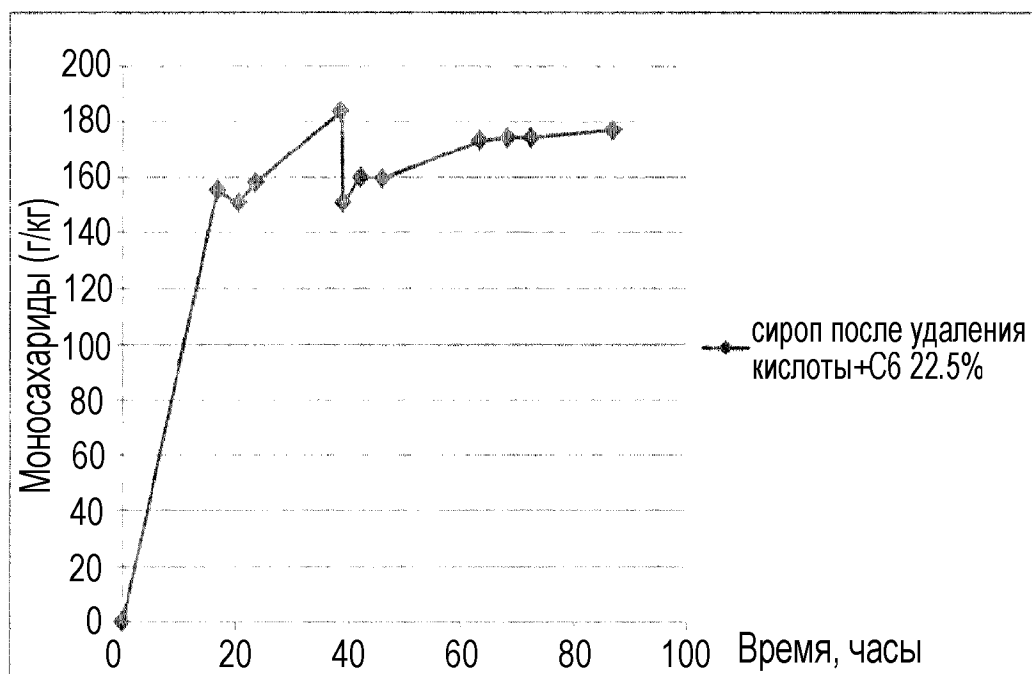
* с другой стороны, жидкой фазы, содержащей, в частности, в водном растворе муравьиную кислоту, уксусную кислоту, лигнины и гемицеллюлозы, представляющие собой второй косубстрат, которые затем могут быть гидролизованы после отделения кислот и лигнинов.

16. Способ по п. 1 для производства биоэтанола, отличающийся тем, что он включает стадию спиртовой ферментации (коферментации) конечного гидролизата.

По доверенности



ФИГ.1



ФИГ.2