

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038364**(13) **B9**

**(12) ИСПРАВЛЕННОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К
ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(15) Информация об исправлении
Версия исправления: 1 (W1 B1)
исправления в описании: стр.9

(51) Int. Cl. **C12P 19/02** (2006.01)
C12P 19/04 (2006.01)
C12P 19/12 (2006.01)

(48) Дата публикации исправления
2021.09.08, Бюллетень №9'2021

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.08.16

(21) Номер заявки
201890708

(22) Дата подачи заявки
2016.08.19

**(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ГИДРОЛИЗАТА БИОМАССЫ С ПОНИЖЕННЫМ
СОДЕРЖАНИЕМ СОЛЕЙ**

(31) 15184895.9

(32) 2015.09.11

(33) EP

(43) 2018.08.31

(86) PCT/EP2016/069739

(87) WO 2017/042018 2017.03.16

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КЛАРИАНТ ИНТЕРНЭШНЛ ЛТД
(CH)

(72) Изобретатель:
Цаврель Михаэль, Денневальд
Даниелле, Хоффманн Филип,
Ферхюльдсонк Маркус (DE)

(74) Представитель:
Агуреев А.П., Фелицына С.Б. (RU)

(56) HUYSKENS CELINE ET AL.: "Membrane capacitive deionization for biomass hydrolysate desalination", SEPARATION AND PURIFICATION TECHNOLOGY, vol. 118, 2 July 2013 (2013-07-02), pages 33-39, XP028738980, ISSN: 1383-5866, DOI: 10.1016/J.SEPPUR.2013.06.032 the whole document in particular "Abstract" and "Experimental"

HUYSKENS CELINE ET AL.: "Cost evaluation of large-scale membrane capacitive deionization for biomass hydrolysate desalination", SEPARATION AND PURIFICATION TECHNOLOGY, vol. 146, 26 March 2015 (2015-03-26), pages 294-300, XP029156955, ISSN: 1383-5866, DOI: 10.1016/J.SEPPUR.2015.03.031 the whole document, in particular "Abstract" and "Experimental"

WO-A1-2006007691

WO-A1-2011027360

NILVEBRANT ET AL.: "Detoxification of lignocellulose hydrolysates with ion-exchange resins", APPLIED BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY, vol. 91-93, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 35-49, XP055036158, ISSN: 0273-2289 the whole document, in particular "Materials and Methods"

SOLANGE IN<E>S MUSSATTO ET AL.: "Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolysates for use in fermentative processes: a review", BIORESOURCE TECHNOLOGY, ELSEVIER BV, GB, vol. 93, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 1-10, XP007904795, ISSN: 0960-8524, DOI: 10.1016/J.BIORTECH.2003.10.005 the whole document

(57) Изобретение относится к способу получения гидролизата биомассы с пониженным содержанием солей.

B9

038364

038364

B9

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к способу получения гидролизата биомассы с пониженным содержанием солей, а также к гидролизату, полученному после способа по изобретению, и применению гидролизата в качестве сбраживаемой среды.

Предшествующий уровень техники

Биомасса, происходящая из остатков агрокультур, таких как тростниково-сахарная багасса, пшеничная солома, ячменная солома, и другого сахарид- или полисахарид- и белоксодержащего материала, является ценным источником не только для очищенных сахаридов, таких как мономерные или димерные сахара, но также для других компонентов, таких как аминокислоты, белки и минералы.

Существуют различные известные в технике способы разделения компонентов, таких как, в частности, сахара из сахарной свеклы и сахарного тростника или зерна. Растворы, полученные из этих так называемых субстратов "первой генерации", являются почти чистыми растворами сахаров и могут использоваться в стандартных способах сбраживания, например, без дополнительной обработки и без существенного влияния на эффективность способа. Однако недостатком, касающимся использования таких веществ, является то, что сахарная свекла, сахарный тростник и зерно являются ценными пищевыми продуктами, и их применение в таких процессах, как получение биотоплива и химических товаров, является весьма спорным.

В отличие от этого растворы, полученные при гидролизе субстратов "второй генерации" на основе остатков агрокультур, таких как тростниково-сахарная багасса, пшеничная солома или ячменная солома, являются сложными смесями белков, минералов и полимерных сахаров. Они также содержат органические кислоты, окрашенные частицы, продукты разложения лигнина и другие примеси. Это делает такие гидролизаты второй генерации неподходящими для дальнейшей переработки, такой как, например, получение полимолочной кислоты из молочной кислоты, из-за ингибирования сбраживания и нежелательной окраски. Существующие способы с участием такого типа гидролизата также страдают от образования осадка в трубах, трубопроводах и на мембранах, что ведет к частой очистке и замене оборудования.

Кроме того, такие субстраты второй генерации типично содержат большие количества лигнина, и полимерные сахара имеют высокую степень полимеризации, что делает такие субстраты неподатливыми и трудными для конвертации. Следовательно, для таких субстратов требуется стадия предварительной обработки для того, чтобы сделать их поддающимися ферментативному гидролизу. На уровне техники обычно используют неорганические кислоты, подобные серной кислоте, что серьезно повышает производственные затраты, так как не только требуется закупить кислоту, но также более дорогостоящей становится обработка отходов.

Что касается получения гидролизата в промышленном масштабе, то ключевым препятствием является однако не только производство высококачественного конечного продукта, но также связанные с этим расходы. Таким образом, очень важным является эффективный способ с низким потреблением энергии и материалов и слабым влиянием на окружающую среду, а также с высокой производительностью превращения биомассы.

Сущность изобретения

Поэтому целью настоящего изобретения является способ, который удовлетворяет таким ключевым критериям.

Авторы настоящего изобретения теперь неожиданно обнаружили, что такой цели может удовлетворять способ, включающий стадии:

- a) предоставления/обеспечения биомассы;
- b) кислотной предварительной обработки биомассы;
- c) гидролиза биомассы и получения гидролизата биомассы;
- d) отделения твердого вещества гидролизата биомассы от жидкости и получения твердой фазы и жидкой фазы;
- e) деионизации жидкой фазы электродиализом с использованием по меньшей мере одной биполярной мембраны;
- f) отделения кислотной и/или щелочной фракции от деионизованной жидкой фазы;
- g) добавления по меньшей мере части отделенной кислотной фракции со стадии b), при этом стадии a)-g) повторяют по меньшей мере один раз.

Способ не только обеспечивает обессоленный высококачественный гидролизат, подходящий для более тонких применений, но также гарантирует эффективное разложение биомассы с низкими материальными вложениями, что ведет к экономически весьма возможному способу.

Термин "биомасса", используемый в настоящем изобретении, относится к любому типу биомассы, известному специалисту в данной области техники, который подходит для способа по изобретению. Особенно предпочтительной является биомасса растительного происхождения. В другом предпочтительном воплощении выбирают начальное содержание сухих веществ в биомассе от 10 до 100 мас.%, предпочтительнее от 35 до 95 мас.% и особенно предпочтительно от 40 до 80 мас.%. Термин "сухое вещество" (d.m.) относится к отношению массы к биомассе, определенной после удаления воды и других летучих компонентов из свежей ткани с использованием весов ИК. Поэтому особенно предпочтительно

выбирать биомассу, в которой ее сухое вещество содержит по меньшей мере 25 мас.% сахаридов, таких как мономерные сахара, димерные сахара и олигосахариды и/или полисахариды, предпочтительнее по меньшей мере 40 мас.%, особенно предпочтительно по меньшей мере 60 мас.%, даже предпочтительнее по меньшей мере 80 мас.% сахаридов, таких как мономерные сахара, димерные сахара и олигосахариды и/или полисахариды. Кроме того, в термин "биомасса" должны быть включены любые смеси подходящих биомасс.

Особенно предпочтительной биомассой является "лигноцеллюлозная биомасса".

Термин "лигноцеллюлозная биомасса" относится к остаткам, отходам и/или побочным продуктам лесоперерабатывающей промышленности, промышленности по переработке сельскохозяйственного сырья, пищевой и бумажной промышленности и бытовым отходам. В частности, термин "лигноцеллюлозная биомасса" при использовании в настоящем изобретении включает солому зерновых культур и/или спелты (таких как пшеница, рис, ячмень, овес), маисовую солому, кукурузные стебли и/или стержни початков, травы, такие как *Sericea lespedeza*, просо прутьевидное (*Panicum virgatum*), слоновая трава (мискантус; китайский камыш), суданская трава (*Sorghum sudanense*, *Sorghum drummondii*), *Arundo donax*, вторичную кору, древесину, древесные остатки, древесную щепу и/или древесные стружки, плодовую мякоть, рисовую солому, банановые листья, пустые фруктовые грозди и остатки агавы.

Другой биомассой, подходящей для способа, являются навоз из стойл, травянистые материалы, кофейная гуща и отходы маслوبيльных заводов, такие как рапсовый жмых и сточные воды заводов, бумажная масса и сточные воды бумажных заводов, макулатура, овощные и фруктовые остатки.

В предпочтительном воплощении способа по настоящему изобретению биомассу выбирают из целлюлозной, гемицеллюлозной и/или лигнинсодержащей биомассы.

В особенно предпочтительном воплощении способа по настоящему изобретению биомассу выбирают из свекловичной пульпы, тростниково-сахарной багассы, соломы сахарного тростника, пшеничной соломы, древесины и их смесей.

В другом особенно предпочтительном воплощении способа по настоящему изобретению биомасса представляет собой лигноцеллюлозную биомассу из остатков агрокультур, таких как пшеничная солома, ячменная солома, соевая солома, тростниково-сахарная багасса, листья и стебли сахарного тростника, солома сахарного тростника, маисовая солома, кукурузная солома и их смеси.

Термин "кислотная предварительная обработка", используемый в настоящем изобретении, следует понимать как соответствующий любому виду обработки, известному специалисту в данной области техники, включающему использование кислоты или комбинации кислот. В рамках настоящего изобретения добавляют любой вид кислоты, такой как серная кислота, уксусная кислота, муравьиная кислота, молочная кислота, фосфорная кислота, азотная кислота, лимонная кислота, винная кислота, янтарная кислота, хлороводородная кислота или их смеси, однако предпочтительно добавлять только кислоты, образовавшиеся во время деионизации согласно стадии е) способа по изобретению. Особым преимуществом способа по настоящему изобретению является то, что в способе нет необходимости добавлять кислоту(ы) извне, способ является автономным в отношении использования кислот. В случае непрерывного процесса - повторения стадий способа а)-g) по меньшей мере один раз - нет необходимости добавлять кислоту извне на первой стадии предварительной обработки б), так как органических кислот, уже имеющихся в биомассе, достаточно для начала процесса. Следовательно, термин "кислотная предварительная обработка", используемый в настоящем изобретении, также включает обработку с использованием кислоты(кислот), уже присутствующей(их) в биомассе.

Кислотную предварительную обработку предпочтительно выполняют в комбинации с механической обработкой. Также возможно, что биомасса, предоставленная со стадии а) способа по изобретению, уже подвергалась механической обработке.

Термин "механическая обработка" относится к любой механической обработке, которая ведет к измельчению биомассы. Механическое измельчение предпочтительно выбирают из группы, включающей механический процесс, дробление, рубку, раздавливание, резку, облучение, помол, такой как сухой помол, мокрый помол и помол на вибрационной шаровой мельнице, и их комбинации.

Особенно предпочтительной механической обработкой согласно настоящему изобретению является паровой взрыв. "Паровой взрыв" согласно настоящему изобретению предпочтительно включает гидротермальную обработку под давлением при температуре материала биомассы от 60 до 350°C, предпочтительно от 80 до 300°C, особенно предпочтительно от 100 до 250°C и наиболее предпочтительно от 110 до 220°C. В предпочтительном воплощении настоящего изобретения давление предпочтительно выбирают от ~100 кПа до 10000 кПа (1-100 бар), предпочтительно от 200 до 5000 кПа (2-50 бар), также предпочтительно от 300 до 2500 кПа (3-25 бар) и наиболее предпочтительно от 500 до 1500 кПа (5-15 бар). Время реакции во время парового взрыва следует выбирать от 10 с до 2 ч, предпочтительно от 1 мин до 1,5 ч и наиболее предпочтительно от 5 мин до 1 ч для обеспечения эффективной трансформации компонентов биомассы при подготовке для следующей стадии гидролиза. В предпочтительном воплощении кислоту добавляют в процессе парового взрыва. Количество добавляемой кислоты предпочтительно находится в интервале от 0,07 до 6,5 моль ионов H^+ , предпочтительнее от 0,13 до 3,3 моль ионов H^+ , наиболее предпочтительно от 0,33 до 1,3 моль ионов H^+ на кг сухого вещества биомассы.

Термин "гидролиз биомассы", используемый в настоящем изобретении, следует понимать как включающий любой вид гидролиза, известный специалисту в данной области техники, который подходит для способа по изобретению. Согласно особенно предпочтительному воплощению настоящего изобретения гидролиз биомассы выполняют методом ферментативного гидролиза.

Согласно предпочтительному воплощению способа по настоящему изобретению ферментативный гидролиз осуществляют путем введения в контакт предварительно обработанную биомассу с ферментной композицией, содержащей по меньшей мере один фермент, выбранный из класса гидролаз.

Термин "приведение в контакт" (или "контактирование") включает любой вид контактирования биомассы с ферментной композицией, известный специалисту в данной области техники, который подходит для способа по изобретению. В предпочтительном воплощении "контактирование" биомассы с ферментной композицией осуществляют путем добавления ферментной композиции к биомассе. Кроме того, особенно предпочтительно, чтобы за добавлением ферментной композиции или одновременно с ним осуществлялось смешивание ферментной композиции и биомассы.

Термин "ферментная композиция" относится к любой композиции, включающей по меньшей мере один фермент, выбранный из класса гидролаз. По меньшей мере один фермент, выбранный из класса гидролаз, составляет предпочтительно от 1 до 99,99 мас.% (относительно массы ферментной композиции), также предпочтительно от 5 до 99 мас.%, особенно предпочтительно от 10 до 95 мас.% и наиболее предпочтительно от 20 до 90 мас.%, и композиция может также содержать по меньшей мере один фермент, выбранный из класса лиаз. В воплощениях, в которых ферментная композиция содержит по меньшей мере один фермент, выбранный из класса лиаз, по меньшей мере один фермент, выбранный из класса гидролаз, предпочтительно составляет от 0,01 до 50 мас.% (относительно массы ферментной композиции), предпочтительно от 0,05 до 20 мас.%, предпочтительнее от 0,08 до 5 мас.% и наиболее предпочтительно от 0,1 до 1 мас.%.

В предпочтительном воплощении ферментная композиция содержит целлюлазы, гемицеллюлазы и/или пектиназы.

В особенно предпочтительном воплощении ферментная композиция содержит по меньшей мере одну целлюбиогидролазу (ЕС 3.2.1.-) и по меньшей мере одну 4-β-глюканазу (ЕС 3.2.1.4).

В особенно предпочтительном воплощении ферментная композиция содержит по меньшей мере одну целлюбиогидролазу (ЕС 3.2.1.-), по меньшей мере одну 4-β-глюканазу (ЕС 3.2.1.4), по меньшей мере одну β-глюкозидазу (ЕС 3.2.1.4), по меньшей мере одну гликозидгидролазу 61 (GH61) и (CBM33), по меньшей мере одну эндоксиланазу (ЕС 3.2.1.8) и по меньшей мере одну β-ксилозидазу (ЕС 3.2.1.37),

В особенно предпочтительном воплощении определенная выше ферментная композиция также содержит один или несколько ферментов, выбранных из β-глюканазы (ЕС 3.2.1.-), ацетилксиланэстеразы (ЕС 3.1.1.72), ацетилгалактанэстеразы (3.1.1.6), α-арабинопиранозидазы (3.2.1.-), α-галактозидазы (ЕС 3.2.1.22), β-галактозидазы (ЕС 3.2.1.23), α-глюкуронидазы (ЕС 3.2.1.139), β-манназы (ЕС 3.2.1.78), пектинметилэстеразы (ЕС 3.1.1.11), пектинацетилэстеразы (ЕС 3.1.1.-), рамногалактуроназы (ЕС 3.2.1.-; GH28), рамногалактуронанацетилэстеразы (ЕС 3.1.1.86), рамногалактуронанэндолиазы (ЕС 4.2.2.23), рамногалактуронанлиазы (ЕС 4.2.2.-) и β-маннозидазы (ЕС 3.2.1.25), полигалактуроназ (ЕС 3.2.1.15, 67, 82; GH28) и пектин/пектатлиаз (ЕС 4.2.2.2, 6, 9, 10).

Термины "целлюлазы", "гемицеллюлазы" и "пектиназы" относятся к любой смеси ферментов, которые вовлекаются в гидролитическое расщепление (деполимеризацию) полимерных целлюлозы, гемицеллюлозы и/или пектина до мономерных сахаров. Используемые в настоящем описании термины "целлюлазы", "гемицеллюлазы" и "пектиназы" относятся как к встречающимся в природе, так и не встречающимся в природе смесям, которые включают несколько ферментов, продуцируемых организмом, например мицелиальным грибом. "Целлюлазы", "гемицеллюлазы" и "пектиназы" предпочтительно получают из грибов, таких как члены подразделения Eumycota и Oomycota, включая, но не ограничиваясь перечисленным, следующие роды: *Aspergillus*, *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Beauveria*, *Cephalosporium*, *Ceriporiopsis*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Claviceps*, *Cochiobolus*, *Cryptococcus*, *Cyathus*, *Endothia*, *Endothia mucor*, *Fusarium*, *Gilocladium*, *Humicola*, *Magnaporthe*, *Myceliophthora*, *Myrothecium*, *Mucor*, *Neurospora*, *Phanerochaete*, *Podospora*, *Paecilomyces*, *Pyricularia*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Schizophyllum*, *Stagonospora*, *Talaromyces*, *Trichoderma*, *Thermomyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolypocladium*, *Trichophyton* и *Trametes*. При предпочтительном осуществлении мицелиальным грибом является вид *Trichoderma*.

В предпочтительном воплощении ферментной композиции целлюлазы и/или пектиназы являются ферментами из источника грибов. В особенно предпочтительном воплощении ферментной композиции грибом-источником является *Trichoderma reesei*.

Термин "смесь ферментов" предпочтительно относится к смеси ферментов, выделенных из одного единственного или нескольких микробных источников. В некоторых воплощениях ферменты для применения в такой(их) смеси(ях) ферментов можно получить из одного или нескольких встречающихся в природе или сконструированных штаммов мицелиальных грибов. Предпочтительные штаммы перечислены выше. Желательной пропорции ферментных компонентов в грибной(ых) смеси(ях) можно достичь, изменяя относительное количество фермента в конечной смеси, например, путем добавления очищенно-

го(ых) или частично очищенного(ых) фермента(ов). В некоторых воплощениях для улучшения расщепления целлюлозного субстрата до сбраживаемых сахаров в конечную(ые) смесь(и) можно добавить одну или несколько ферментативных активностей, которые мицелиальными грибами не экспрессируются эндогенно или экспрессируются на относительно низком уровне. Добавляемый(е) фермент(ы) можно добавлять как добавку к конечной(ым) смеси(ям), и ферменты могут являться компонентом отдельной целой культуральной среды или могут являться очищенными или минимально извлеченными и/или очищенными.

Термин "целлюлаза" относится к любому ферменту, способному гидролизовать целлюлозы-полимеры до более коротких олигомеров и/или глюкозы. Целлюлазы, предпочтительные в ферментной композиции, включают целлобиогидролазы (CBH) (EC 3.2.1.-), эндо-1,4-глюканазы (EG) (EC 3.2.1.4.), β-глюкозидазу (EC 3.2.1.4), целлобиогидролазу (EC 3.2.1.21), гликозидгидролазу 61 (GH61 и CBM33), экспансии, сволленин, лузинин и белки CIP (EC 3.1.1.-; CE 15).

Термин "гемицеллюлаза" относится к любому ферменту, способному разрушать или поддерживать разрушение гемицеллюлозы. Гемицеллюлазы, предпочтительные в ферментной композиции, включают β-глюканазы (EC 3.2.1.-), эндоксилазы (EC 3.2.1.8), β-ксилозидазы (EC 3.2.1.37), ацетилксиланэстеразу (EC 3.1.1.72), ацетилгалактанэстеразу (3.1.1.6), ацетилманнанэстеразу, ферулоилэстеразу (EC 3.1.1.73), глюкуронилэстеразу (EC 3.1.1.-), α-L-арабинофуранозидазу (EC 3.2.1.55), α-арабинопиранозидазу (3.2.1.-), α-галактозидазу (EC 3.2.1.22), β-галактозидазу (EC 3.2.1.23), α-глюкуронидазы (EC 3.2.1.139), β-манназу (EC 3.2.1.78), β-маннозидазы (EC 3.2.1.25), маннан-1,4-маннобиозидазу (EC 3.2.1.100), арабино-галактан-эндобета-1,4-галактаназу (EC 3.2.1.89), эндобета-1,3-галактаназу (EC 3.2.1.90), галактан-эндобета-1,3-галактаназу (EC 3.2.1.181), глюкуроноарабиноксилан-эндо-1,4-бета-ксиланазу (EC 3.2.1.136), альфа-L-фукозидазу (EC 3.2.1.51), кониферин-бета-глюкозидазу (EC 3.2.1.126), ксилоглюкангидролазы (EC 3.2.1.150, 151, 155), ксилан-α-1,2-глюкуронозидазу (EC 3.2.1.131), эндоксилогалактуронангидролазу (EC 3.2.1.-; GH28), α-амилазу (EC 3.2.1.1), глюкан-1,4-α-глюкозидазу (EC 3.2.1.3), галактан-1,3-галактозидазу (GH43), -1,4-эндогалактаназу (EC 3.5.1.89; GH53), α-рамнозидазу (EC 3.2.1.40), β-рамнозидазу (EC 3.2.1.43), лигнинпероксидазу (EC 1.11.1.14), Mn-пероксидазу (EC 1.11.1.13), арилалкогольоксидазу (EC 1.1.3.7), глиоксальоксидазу (EC 1.1.3.), карбогидратоксидазы (EC 1.1.3.4, 9, 10), лакказы (EC 1.10.3.2) и целлобиозодегидрогеназу (EC 1.1.99.18).

Термин "пектиназа" относится к любому ферменту, способному разрушать или поддерживать разрушение пектина. Пектиназы, предпочтительные в ферментной композиции, включают полигалактуроназы (EC 3.2.1.15, 67, 82; GH28), пектин/пектатлиазы (EC 4.2.2.2, 6, 9, 10), пектинметилэстеразу (EC 3.1.1.11), пектинацетилэстеразу (EC 3.1.1.-), рамногалактуроназу (EC 3.2.1.-; GH28), рамногалактуронан-ацетилэстеразу (EC 3.1.1.86), рамногалактуронан-эндолиазу (EC 4.2.2.23), рамногалактуронан-лиазу (EC 4.2.2.-), рамногалактуронан-галактуроногидролазу (EC 3.2.1.-), ксилогалактуронан-гидролазу (EC 3.2.1.-), бета-арабинофуранозидазу (EC 3.2.1.55), бета-1,4-галактаназу (EC 3.2.1.89), бета-1,3-галактаназу (EC 3.2.1.90), бета-галактозидазу (EC 3.2.1.23), альфа-галактозидазу (EC 3.2.1.22), ферулоилацетилэстеразу (EC 3.1.1.-), альфа-фукозидазу (EC 3.2.1.51), (бета-фукозидазу) (EC 3.2.1.38), бета-апиозидазу (EC 3.2.1.-), альфа-рамнозидазу (EC 3.2.1.40), бета-рамнозидазу (EC 3.2.1.43), альфа-арабинопиранозидазу (EC 3.2.1.-), бета-глюкуронидазу (EC 3.2.1.31), альфа-глюкуронидазу (EC 3.2.1.139), бета-ксилозидазу (EC 3.2.1.37) и альфа-ксилозидазу (EC 3.2.1.x).

Ферменты классифицированы согласно номенклатуре, которая основана или на номенклатуре и классификации ферментов Международного союза биохимии и молекулярной биологии (<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>) или на базе данных Carbohydrate-Active EnZymes (<http://www.cazy.org/>).

Термин "активность" фермента относится к каталитической активности фермента в соответствующих условиях, в которых фермент служит в качестве белкового катализатора, который превращает специфические полимерные или искусственные субстраты в специфические олигомерные или мономерные продукты. В таком контексте термин "соответствующие условия" хорошо известен и применяется специалистами в данной области техники.

В предпочтительном воплощении гидролиз биомассы выполняют в течение времени, достаточного для гидролиза по меньшей мере 20 мас.%, предпочтительно по меньшей мере 30 мас.%, предпочтительнее по меньшей мере 50 мас.% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 60 мас.% биомассы. В другом предпочтительном воплощении гидролиз биомассы выполняют в течение времени, достаточного для гидролиза от 10 до 100 мас.%, предпочтительно от 20 до 90 мас.%, даже предпочтительнее от 30 до 85 мас.% и наиболее предпочтительно от 40 до 75 мас.% целлюлозы биомассы. Термин "гидролиз" следует понимать как гидролитическую конверсию нерастворимых полимерных компонентов биомассы в растворимые мономерные, димерные и/или олигомерные соединения за счет химических, физических и/или ферментативных процессов, таких как гидролиз.

В особенно предпочтительном воплощении гидролиз биомассы выполняют в течение 1 мин - 136 ч, предпочтительнее в течение 30 мин - 112 ч, особенно предпочтительно в течение 1 - 100 ч, даже предпочтительнее в течение 4 - 96 ч, также особенно предпочтительно от 12 до 85 ч.

В другом предпочтительном воплощении гидролиз биомассы выполняют до тех пор, пока содержание оставшихся нерастворимых твердых веществ не станет менее 40 мас.%, предпочтительно менее 30 мас.%, даже предпочтительнее менее 20 мас.% и наиболее предпочтительно менее 15 мас.%. В другом предпочтительном воплощении гидролиз биомассы выполняют до тех пор, пока содержание оставшихся нерастворимых твердых веществ не составит от 5 до 40 мас.%, предпочтительно от 8 до 30 мас.% и наиболее предпочтительно от 10 до 25 мас.%.

В другом предпочтительном воплощении гидролиз биомассы выполняют до тех пор, пока биомасса не разжижется по меньшей мере на 50%, предпочтительно по меньшей мере на 60% и наиболее предпочтительно по меньшей мере на 80%, причем особенно предпочтительно разжижение от 60 до 90%.

Температуру реакции во время гидролиза предпочтительно выбирают от 25 до 80°C, предпочтительнее выбирают от 30 до 75°C и особенно предпочтительно от 35 до 65°C. В другом предпочтительном воплощении гидролиз биомассы выполняют в течение 1-120 ч, предпочтительно 2-110 ч, предпочтительнее 3-100 ч, при этом выбирают температуру от 35 до 75°C или от 45 до 65°C.

В другом предпочтительном воплощении pH во время гидролиза предпочтительно выбирают от 5 до 6,5, особенно предпочтительно от 4,5 до 5,5.

Оптимальные уровни дозировки будут изменяться значительно в зависимости от субстрата и используемых технологий предварительной обработки. Ферментную композицию предпочтительно добавляют к биомассе в количестве от 0,01 до 24 мас.% от сухого вещества биомассы, предпочтительнее 0,025-12 мас.% от сухого вещества биомассы, особенно предпочтительно 0,05-6 мас.% от сухого вещества биомассы и наиболее предпочтительно 0,1-3 мас.% от сухого вещества биомассы. Общую концентрацию фермента (белка) определяют по методу Брэдфорда с бычьим сывороточным альбумином в качестве стандарта для сравнения (Bradford M., 1976).

Гидролиз биомассы выполняют в любом из сосудов, известных специалисту в данной области техники, который подходит для способа по изобретению, предпочтительно в реакторе. Подходящие реакторы известны специалистам в данной области техники. Предпочтительные сосуды/реакторы включают, но не ограничиваются перечисленным, сосуды/реакторы, включающие средства измерения перемешивания и/или средства измерения перекачивания или рециркуляции содержащейся биомассы в реакторе. Другие предпочтительные средства измерения предпочтительных реакторов включают, но не ограничиваются перечисленным, средства измерения температуры и/или контроля за pH и регулирования температуры и/или pH.

Термин "гидролизат биомассы", используемый в настоящем изобретении, следует понимать как деполимеризованный биополимер, который деполимеризован путем реакции гидролиза. Реакцию гидролиза следует понимать как разрыв химических связей за счет добавления воды. Одним из технических путей выполнения гидролиза является добавление к биомассе ферментов гидролаз.

В предпочтительном воплощении гидролизат биомассы включает по меньшей мере 50 мас.% сахаридов в форме мономерных и димерных сахаров, предпочтительно по меньшей мере 65 мас.%, предпочтительнее по меньшей мере 75 мас.%, также предпочтительно по меньшей мере 85 мас.% и наиболее предпочтительно 99 мас.% всех относительно сухого вещества (d.m.) биомассы. В другом предпочтительном воплощении гидролизат биомассы включает аминокислоты, олигопептиды, минералы, олигосахариды и/или белки, а также органические кислоты. Содержание минералов предпочтительно составляет по меньшей мере 0,5 мас.% солей, предпочтительно по меньшей мере 1 мас.%, предпочтительнее по меньшей мере 2 мас.% и наиболее предпочтительно 3 мас.% всего относительно сухого вещества (d.m.) биомассы. Гидролизат биомассы может включать органические кислоты, такие как муравьиная кислота, уксусная кислота, галактуриновая кислота и молочная кислота. Он также может включать следующие продукты разложения: фенольные соединения, такие как 4-гидрокси-3-метоксифенильные и 4-гидрокси-3,5-диметоксифенильные, феруловая кислота, танины и терпены.

Согласно стадии (d) способа по изобретению из гидролизата биомассы выделяют твердую и жидкую фазы. Разделение твердой и жидкой фазы гидролизата биомассы (далее "жидкая фаза" или "твердая фаза") можно осуществить любыми средствами, известными специалисту в данной области техники, которые подходят для цели изобретения, и предпочтительно осуществляют путем фильтрации, центрифугирования, декантации или выдавливания, например, с помощью червячного пресса. Предпочтительным является фильтр-пресс, наиболее предпочтительным мембранный фильтр-пресс. В предпочтительном воплощении фильтровальная ткань фильтр-пресса имеет воздухопроницаемость от 2 до 10 л/дм²/мин. Вспомогательные фильтрующие материалы, такие как диатомовая земля, или кизельгур, или перлит, также можно добавлять во время фильтрации, предпочтительно в концентрациях от 0,1 до 10 мас.%, предпочтительнее от 0,5 до 5 мас.% и наиболее предпочтительно от 1 до 3 мас.%.

После разделения твердой и жидкой фаз согласно стадии (e) выполняют деионизацию жидкой фазы электродиализом с использованием по меньшей мере одной биполярной мембраны. В настоящем изобретении "электродиализ с использованием по меньшей мере одной биполярной мембраны" следует понимать как любой метод, включающий использование трех различных типов мембран, подходящих для удаления солей путем удаления ионов, таких как, например, Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, SO₄²⁻, PO₃³⁻, Cl⁻ и расщепленная H₂O, присутствующая в жидкой фазе. Электродиализ с использованием по меньшей мере одной

биполярной мембраны предпочтительно включает использование катионообменной мембраны, анионообменной мембраны и каталитического промежуточного слоя так называемой "биполярной мембраны" для возможности расщепления воды в жидкой фазе на протоны и гидроксидные ионы. Через комбинацию селективного удаления солей с помощью катионо- и анионообменных мембран с одновременной диссоциацией воды на каталитическом промежуточном слое образуются соответствующие неорганические или органические кислотные и щелочные фракции.

Когда для деионизации используют электродиализ с использованием по меньшей мере одной биполярной мембраны, ионы, удаляемые из раствора, извлекают в жидкости, называемой "концентратом". В этом отношении особенно предпочтительно добавлять жидкость в ячейку установки для электродиализа перед началом деионизации. В другом предпочтительном воплощении такую жидкость не заменяют после остановки деионизации данного объема, но концентрат используют повторно при повторной деионизации по меньшей мере в 2 циклах, предпочтительнее по меньшей мере в 4 циклах, особенно предпочтительно в 6 циклах и наиболее предпочтительно в 10 циклах.

В предпочтительном воплощении используют по меньшей мере одну катионообменную мембрану, по меньшей мере одну анионообменную мембрану и по меньшей мере один каталитический промежуточный слой или биполярную мембрану. В другом предпочтительном воплощении по меньшей мере два комплекта таких мембран располагают в ряд, предпочтительно по меньшей мере 4 комплекта, также предпочтительно по меньшей мере 6 комплектов и наиболее предпочтительно по меньшей мере 10 комплектов. В особенно предпочтительном воплощении все три мембраны или все комплекты мембран, определенные ранее, располагают в едином/одном устройстве.

Деионизацию предпочтительно осуществляют при температуре в интервале от 5 до 80°C, предпочтительнее в интервале от 10 до 75°C, наиболее предпочтительнее в интервале от 15 до 70°C. Падение давления в ячейке для электродиализа составляет предпочтительно ниже 100 кПа (1 бар), предпочтительнее ниже 50 кПа (0,5 бар). В другом особенно предпочтительном воплощении деионизацию осуществляют до тех пор, пока проводимость раствора не снизится по меньшей мере до 10 мС/см, предпочтительнее по меньшей мере до 6 мС/см, особенно предпочтительно по меньшей мере до 4 мС/см и наиболее предпочтительно по меньшей мере до 2 мС/см.

В другом предпочтительном воплощении за деионизацией методом электродиализа с использованием по меньшей мере одной биполярной мембраны следует емкостная деионизация. Емкостную деионизацию предпочтительно применяют как так называемую "мембранную емкостную деионизацию", т.е. путем встраивания катионообменной мембраны и анионообменной мембраны в установку для емкостной деионизации. Если за электродиализом с использованием по меньшей мере одной биполярной мембраны следует мембранная емкостная деионизация, электродиализ предпочтительно выполняют до тех пор, пока проводимость раствора не снизится по меньшей мере до 10 мС/см, предпочтительнее по меньшей мере до 6 мС/см, особенно предпочтительно по меньшей мере до 4 мС/см и наиболее предпочтительно по меньшей мере до 2 мС/см перед переключением на мембранную емкостную деионизацию. Затем после электродиализа используют мембранную емкостную деионизацию для дополнительно снижения проводимости раствора предпочтительно по меньшей мере до 8 мС/см, предпочтительнее по меньшей мере до 6 мС/см, особенно предпочтительно по меньшей мере до 4 мС/см и наиболее предпочтительно по меньшей мере до 2 мС/см.

В другом предпочтительном воплощении за деионизацией методом электродиализа с использованием по меньшей мере одной биполярной мембраны следует ионообменная хроматография. Если за электродиализом с использованием по меньшей мере одной биполярной мембраны следует ионообменная хроматография, электродиализ предпочтительно выполняют до тех пор, пока проводимость раствора не снизится по меньшей мере до 10 мС/см, предпочтительнее по меньшей мере до 6 мС/см, особенно предпочтительно по меньшей мере до 4 мС/см и наиболее предпочтительно по меньшей мере до 2 мС/см перед переключением на ионообменную хроматографию. Затем после электродиализа используют ионообменную хроматографию для дополнительно снижения проводимости раствора предпочтительно по меньшей мере до 8 мС/см, предпочтительнее по меньшей мере до 6 мС/см, особенно предпочтительно по меньшей мере до 4 мС/см и наиболее предпочтительно по меньшей мере до 2 мС/см.

В настоящем изобретении "ионный обмен" определяется как обмен ионов между раствором, содержащим по меньшей мере один ион, и твердым полимерным или неорганическим ионообменным материалом, при этом ион, растворенный в растворе, обменивается и заменяется через контакт с ионообменным материалом на ион с таким же зарядом.

Согласно стадии f) способа по изобретению кислотная и щелочная фракции отделяются от деионизованной водной фракции. Следовательно, на стадии e) генерируются кислотная фракция, щелочная фракция и обессоленная жидкая фаза. Разделение согласно настоящему изобретению можно осуществить любым методом или средствами, известными специалисту в данной области техники, которые подходят для способа по изобретению, и предпочтительно осуществляют непрерывно во время стадии деионизации.

В зависимости от содержания солей в жидкой фазе кислотная фракция может содержать одну или несколько кислот, таких как, например, HCl, муравьиная кислота, уксусная кислота, молочная кислота,

серная кислота, фосфорная кислота, азотная кислота, лимонная кислота и янтарная кислота. Щелочная фракция может содержать одну или несколько щелочей, таких как, например, NaOH, KOH, $Mg(OH)_2$ и $Ca(OH)_2$. В предпочтительном воплощении щелочная фракция имеет pH от 9 до 14, предпочтительнее от 12 до 13. В другом предпочтительном воплощении кислотная фракция имеет pH от 1 до 5, предпочтительнее от 2 до 4.

Согласно стадии g) способа по изобретению по меньшей мере часть отделенной кислотной фракции добавляют на стадии способа b). При этом на стадии способа b) предпочтительно добавлять от 5 до 99 мас.% отделенной кислоты, предпочтительно от 10 до 98 мас.%, даже предпочтительнее от 15 до 97 мас.% и наиболее предпочтительно от 30 до 96 мас.%. В особенно предпочтительном воплощении настоящего изобретения на стадии способа b) добавляют всю отделенную кислотную фракцию.

Путем добавления по меньшей мере части кислотной фракции на стадии b) способа по изобретению можно осуществить кислотную предварительную обработку биомассы без необходимости использовать и закупать дополнительное сырье. Это ведет не только к снижению закупочных и логистических расходов, но также к снижению затрат на утилизацию. Серная кислота, которую обычно используют в таких способах из-за ее доступности в больших количествах при низкой стоимости, требует экстенсивного и затратного управления отходами.

В другом предпочтительном воплощении способа по настоящему изобретению по меньшей мере часть отделенной щелочной фракции добавляют на стадии способа c). В особенно предпочтительном воплощении отделенную щелочную фракцию добавляют на стадии c) до тех пор, пока биомасса не достигнет pH в интервале от 4,5 до 5,5, причем наиболее предпочтительным является pH 5. Использование отделенной щелочной фракции на стадии c) способа по изобретению ведет к дополнительному снижению расходов.

Другим применением отделенной щелочной фракции является ее использование для очистки на месте (ср) одного или нескольких устройств, используемых в способе.

В предпочтительном воплощении способа по изобретению регулируют температуру гидролизата биомассы перед тем, как подвергнуть гидролизат биомассы разделению на твердую и жидкую фазы согласно стадии c). При этом предпочтительно выбирают температуры в интервале от 50 до 95°C, предпочтительно от 60 до 90°C, даже предпочтительно от 65 до 85°C. Регулирование осуществляют любыми средствами, известными специалисту в данной области техники, которые подходят для способа по изобретению. В особенно предпочтительном воплощении по меньшей мере одну кислоту добавляют к гидролизату с установленной температурой. В объем настоящего изобретения входит добавление по меньшей мере одной органической и/или по меньшей мере одной неорганической кислоты, в то время как по меньшей мере одну кислоту предпочтительно выбирают из группы, включающей уксусную кислоту, муравьиную кислоту, молочную кислоту, галактуроновую кислоту, лимонную кислоту, серную кислоту, фосфорную кислоту, хлороводородную кислоту, азотную кислоту и их смеси. В другом предпочтительном воплощении настоящего изобретения к гидролизату биомассы добавляют часть кислотной фракции, отделенной согласно стадии f) способа по изобретению. В предпочтительном воплощении одну кислоту выбирают из кислот с величиной рКа ниже 5,0, предпочтительно из кислот с величиной рКа ниже 3,5. В другом предпочтительном воплощении по меньшей мере одну кислоту добавляют к гидролизату биомассы до тех пор, пока не достигнут pH от 1,5 до 4,5, предпочтительно от 2,0 до 4,0 и наиболее предпочтительно от 2,5 до 3,5.

Стадии a)-g), определенные выше, следует повторить по меньшей мере один раз. При этом предпочтительно повторять стадии a)-g) от 2 до 100000 раз, предпочтительно от 10 до 70000 раз, предпочтительнее от 15 до 50000 раз и наиболее предпочтительно от 17 до 10000 раз. В особенно предпочтительном воплощении способа по настоящему изобретению способ выполняют как непрерывный процесс. В объем настоящего изобретения входит выполнение стадии очистки сосуда и/или другой части системы в любое время между или после стадий a)-g). Очистку можно осуществить любыми средствами, известными специалисту в данной области техники, подходящими для цели изобретения, и также можно включать замену одной или нескольких частей системы. В другом предпочтительном воплощении стадии a)-g) по меньшей мере частично осуществляют одновременно.

Осуществление стадий a)-g) способа по изобретению будет приводить к композиции, которая в объеме настоящей заявки называется "обессоленным гидролизатом" или "очищенным гидролизатом".

Другой аспект настоящего изобретения относится к обессоленному гидролизату, полученному согласно способу по изобретению, определенному в настоящем описании. Содержание солей в обессоленном гидролизате предпочтительно составляет самое большее 80%, предпочтительно самое большее 60%, предпочтительнее самое большее 40%, предпочтительнее самое большее 20% и наиболее предпочтительно самое большее 10% всего относительно содержания солей после гидролиза субстрата.

Настоящее изобретение также относится к применению обессоленного гидролизата, полученного согласно способу по изобретению, в качестве сбраживаемой среды.

Ценные органические соединения, полученные при бактериальном брожении обессоленного гидролизата, включают, но не ограничиваются перечисленным, органические кислоты (такие как уксусная кислота, молочная кислота, янтарная кислота, итаконовая кислота, фумаровая кислота, пропионовая кисло-

та и глюкуроновая кислота), аминокислоты (такие как глутаминовая кислота, лейцин, лизин, треонин, аспарагиновая кислота, фенилаланин, цистеин), капролактамы (такие как альфа-аминокапролактам), антибиотики (такие как блеомицин, виргиниамидин, линкомицин, моненсин, бластицидин, тетрациклин), витамины (такие как витамин B2, B12 и C), ферменты, нуклеотиды/нуклеозиды (такие как NADH, АТР, сАМР, FAD, кофермент А), биогаз, биополимеры (такие как полигидроксидибутарат, полиамиды/фиброины), белки, полисахариды (такие как ксантан, декстран), аминоглюканы (такие как гиалуроновая кислота), а также органические растворители и биотопливо (такие как ацетон, этанол, бутанол, пропандиол).

Ценные органические соединения, полученные при дрожжевом брожении обессоленного гидролизата, включают, но не ограничиваются перечисленным, органические растворители (например, этанол, пропанол), нуклеотиды (например, РНК), биосурфактанты (например, софорозные липиды), ферменты и биополимеры (например, спидроины).

Ценные органические соединения, полученные при брожении обессоленного гидролизата с использованием культуры грибов, включают, но не ограничиваются перечисленным, органические кислоты (такие как лимонная кислота, фумаровая кислота, итаконная кислота), антибиотики (такие как пенициллин, цефалоспорины), ферменты и полисахариды (такие как хитин).

В другом предпочтительном воплощении такого способа органическое соединение выбирают из спиртов, органических кислот, биополимеров, антибиотиков, аминокислот, капролактамов, полисахаридов, органических растворителей, биотоплива, аминоглюканов, нуклеотидов/нуклеозидов, витаминов, биосурфактантов, ферментов и их смесей.

Далее описываются особенно предпочтительные воплощения способа по изобретению, которые не следует понимать как ограничивающие изобретение в каком-либо отношении.

Особенно предпочтительное воплощение 1.

Особенно предпочтительным является способ получения обессоленного гидролизата биомассы, включающий стадии:

- a) предоставления/обеспечения лигноцеллюлозной биомассы, предпочтительно выбранной из соломой зерновых культур и багассы;
- b) кислотной предварительной обработки биомассы;
- c) ферментативного гидролиза биомассы и получения гидролизата биомассы;
- d) отделения твердого вещества гидролизата биомассы от жидкости и получения твердой фазы и жидкой фазы;
- e) деионизации жидкой фазы электродиализом с использованием по меньшей мере одной биполярной мембраны;
- f) отделения кислотной и/или щелочной фракции от деионизованной жидкой фазы;
- g) добавления по меньшей мере части отделенной кислотной фракции со стадии b), при этом стадии a)-g) повторяют по меньшей мере один раз.

Особенно предпочтительное воплощение 2.

Особенно предпочтительным является способ получения обессоленного гидролизата биомассы, определенный выше в особенно предпочтительном воплощении 1, при этом предварительную обработку осуществляют методом парового взрыва.

Особенно предпочтительное воплощение 3.

Особенно предпочтительным является способ получения обессоленного гидролизата биомассы, определенный выше в особенно предпочтительном воплощении 1 или 2, при этом гидролизат биомассы приводят к pH от 4,5 до 5,5, предпочтительно к pH 5, и устанавливают температуру от 50 до 95°C, предпочтительно температуру 65-85°C.

Особенно предпочтительное воплощение 4.

Особенно предпочтительным является способ получения обессоленного гидролизата биомассы, определенный выше в особенно предпочтительном воплощении 1, 2 или 3, при этом отделение твердого вещества от жидкости осуществляют с помощью фильтр-пресса, предпочтительно мембранного фильтр-пресса.

Особенно предпочтительное воплощение 5.

Особенно предпочтительным является способ получения обессоленного гидролизата биомассы, определенный выше в любом из особенно предпочтительных воплощений 1-4, при этом электродиализ осуществляют с использованием по меньшей мере одной катионообменной мембраны, по меньшей мере одной анионообменной мембраны и по меньшей мере одной биполярной мембраны.

Особенно предпочтительное воплощение 6.

Особенно предпочтительным является способ получения обессоленного гидролизата биомассы, определенный выше в особенно предпочтительном воплощении 5, при этом электродиализ осуществляют с использованием по меньшей мере двух комплектов мембран, причем каждый состоит из одной катионообменной мембраны, одной анионообменной мембраны и одной биполярной мембраны, причем более предпочтительными являются по меньшей мере 4 комплекта, и особенно предпочтительными являются по меньшей мере 6 комплектов, и наиболее предпочтительными являются по меньшей мере 10 комплек-

тов.

Особенно предпочтительное воплощение 7.

Особенно предпочтительным является способ получения обессоленного гидролизата биомассы, определенный выше в любом из особенно предпочтительных воплощений 1-6, при этом за электродиализом следует мембранная емкостная деионизация или ионообменная хроматография.

Особенно предпочтительное воплощение 8.

Особенно предпочтительным является способ получения обессоленного гидролизата биомассы, определенный выше в любом из особенно предпочтительных воплощений 1-7, при этом стадии а)-g) повторяют по меньшей мере 50 раз, предпочтительно по меньшей мере 100 раз.

Особенно предпочтительное воплощение 9.

Особенно предпочтительным является способ получения обессоленного гидролизата биомассы, определенный выше в любом из особенно предпочтительных воплощений 1-7, при этом способ выполняют по непрерывной схеме.

Особенно предпочтительное воплощение 10.

Особенно предпочтительным является способ получения обессоленного гидролизата биомассы, определенный выше в любом из особенно предпочтительных воплощений 1-9, при падении давления в ячейке для электродиализа составляет предпочтительно ниже 100 кПа (1 бар), и/или при этом деионизацию выполняют до тех пор, пока проводимость жидкой фазы не снизится по меньшей мере до 10 мС/см.

Пример и чертеж

Теперь настоящее изобретение описывается с помощью следующих далее примера и чертежа. Пример и чертеж приводятся только в целях пояснения изобретения и не должны рассматриваться как ограничивающие изобретение.

Чертеж показывает относительное количество глюкозы, извлеченной во время ферментативного гидролиза биомассы, когда биомасса предварительно обработана без добавления кислоты (левый столбик) и когда биомасса предварительно обработана с добавлением кислоты (способ по изобретению) (правый столбик), когда способ по изобретению осуществляют согласно примеру 1.

Солому зерновых культур с содержанием сухого вещества 45 мас.% предварительно обрабатывают паровым взрывом (220°C). После парового взрыва обработанную таким образом солому зерновых культур ("субстрат") загружают в бак с мешалкой (Labfors, Infors AG, Швейцария). К субстрату добавляют ферментную композицию для гидролиза субстрата, содержащую 91,3 мас.% Celluclast® (целлюлаза из *Trichoderma reesei*, ATCC 26921, C2730 Sigma) и 8,7 мас.% глюкозидазы (49291 Sigma), при отношении ферментов к твердому веществу 0,5 мас.%, и получают кашу. Гидролиз осуществляют при 50°C, pH 5,0 в течение 72 ч при перемешивании при 50 об/мин. После гидролиза кашу греют при 70°C в течение 1 ч при перемешивании при 200 об/мин и затем доводят pH до 2,5, используя 1 М H₂SO₄. Затем обработанную таким образом кашу фильтруют с использованием фильтр-пресса с фильтровальной тканью, имеющей воздухопроницаемость 5 л/дм²/мин, при постоянном давлении 300 кПа (3 бар), и получают жидкую и твердую фазу. Затем жидкую фазу подвергают деионизации с использованием электродиализа с биполярными мембранами (ED64004, PCCell) со стопкой мембран, состоящей из 10 биполярных мембран (PCCell), 10 анионообменных мембран (PC 200D, PCCell) и 9 катионообменных мембран (PC SK, PCCell). Электродиализ выполняют при 32°C в течение 2 ч и скорости откачки 50 л/ч для получения разбавленного раствора и концентрата. Через 2 ч проводимость снижается на 83%, что ведет к обессоленному гидролизату. Одновременно во время электродиализа получают 7,1 г/л кислотной фракции с pH 2. Эту фракцию можно использовать для кислотной предварительной обработки биомассы, причем таким образом существенно снижаются затраты на материалы и удаление отходов. Она перекрывает количество кислоты, необходимое для кислотной предварительной обработки такого же количества биомассы, которое использовалось сначала, на 160%.

Использование кислоты при предварительной обработке биомассы является весьма выгодным, так как дает возможность извлечь из биомассы во время ферментативного гидролиза на 13% больше глюкозы по сравнению с предварительной обработкой без добавления кислоты. Результаты показаны на чертеже.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения обессоленного гидролизата биомассы, включающий стадии:
 - а) обеспечения наличия биомассы;
 - б) кислотной предварительной обработки биомассы;
 - в) гидролиза биомассы с получением гидролизата биомассы;
 - г) отделения твердого вещества гидролизата биомассы от жидкости с получением твердой фазы и жидкой фазы;
 - д) деионизации жидкой фазы электродиализом с использованием по меньшей мере одной биполярной мембраны с получением кислотной фракции, щелочной фракции и деионизованной водной фракции;
 - е) отделения кислотной и/или щелочной фракции от деионизованной водной фракции, которая

представляет собой обессоленный гидролизат биомассы; и

г) добавления по меньшей мере части отделенной кислотной фракции на стадию б),

при этом стадии а)-г) повторяют по меньшей мере один раз, температуру гидролизата биомассы устанавливают в интервале от 50 до 95°C до стадии д) и по меньшей мере часть отделенной кислотной фракции добавляют к гидролизату биомассы до тех пор, пока рН отделенной жидкой фазы не достигнет рН, выбранного в интервале от рН 1,5 до 4,5.

2. Способ по п.1, в котором предварительную обработку осуществляют в комбинации с механической обработкой методом парового взрыва.

3. Способ по п.1 или 2, в котором на стадии б) добавляют всю отделенную кислотную фракцию.

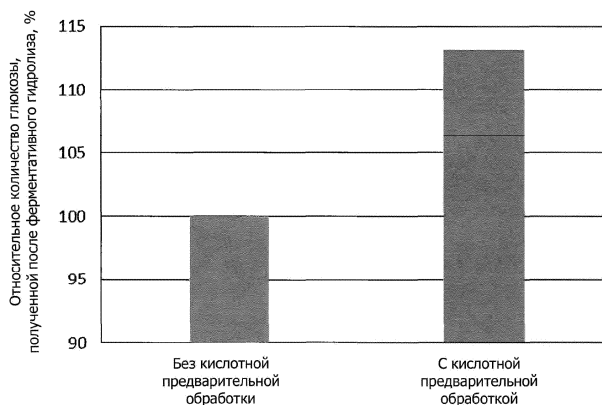
4. Способ по любому из пп.1-3, в котором гидролиз биомассы осуществляют методом ферментативного гидролиза.

5. Способ по п.4, в котором на стадию с) добавляют по меньшей мере часть отделенной щелочной фракции.

6. Способ по п.5, в котором по меньшей мере часть отделенной щелочной фракции добавляют на стадии с) до тех пор, пока рН биомассы не установится в интервале от 4,5 до 5,5.

7. Способ по любому из пп.1-6, в котором биомасса представляет собой лигноцеллюлозную биомассу.

8. Способ по любому из пп.1-7, в котором за электродиализом с использованием по меньшей мере одной биполярной мембраны следует дополнительная мембранная емкостная деионизация или ионообменная хроматография.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2