(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 104428421 A
(43)申请公布日 2015.03.18

(21)申请号 201380036859.1
(22)申请日 2013.07.12
(30)优先权数据
1212532.4 2012.07.13 GB
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2015.01.09
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/GB2013/051868 2013.07.12
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2014/009749 EN 2014.01.16
(71)申请人 亲切消费者有限公司
地址 英国伦敦
(72)发明人 亚历克斯·赫恩 R·古普塔 S·B·洛 H·K·陈
(74)专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127
代理人 庞东成 龚泽亮
(51)Int.Cl.
C12P 19/02(2006.01)
C12P 19/14(2006.01)
C12P 7/06(2006.01)
A24B 15/24(2006.01)

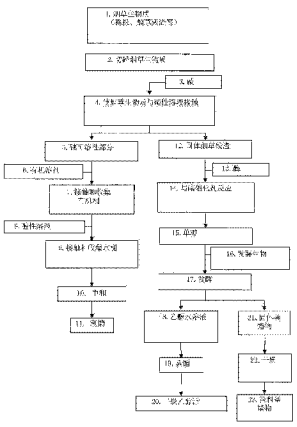
权利要求书2页 说明书14页 附图1页

(54)发明名称

利用烟草的方法

(57)摘要

本发明涉及由烟草生物质得到成分或产品的方法。具体而言，本发明涉及由单一烟草生物质原料取得两种以上成分或产品的方法，其中，在所述方法中，至少一种成分或产品，例如烟碱，从液相中提取，并且至少一种成分或产品，例如醇等有机分子，由固相产生。本发明还涉及由源自生物质原料的有机分子合成的产品，特别是塑料。



CN 104428421 A

1. 一种由烟草生物质原料得到两种以上成分或产物的方法，其中，至少一种成分或产物从液相中提取，并且至少一种成分或产物由固相产生，其中，所述方法包括以下步骤：

(a) 使用碱水溶液处理所述生物质原料，以产生液相和含有不溶的烟草纤维素材料的固相；

(b) 将所述液相与所述固相分离；

(c) 通过液－液或固相提取从所述液相中提取至少一种成分或产物；

(d) 将所述固相与一种或多种能够水解所述纤维素材料的酶接触，以产生可发酵糖；和

(e) 使所述可发酵糖发酵，以由所述固相产生至少一种成分或产物。

2. 如权利要求 1 所述的方法，其中，从所述液相中提取的所述成分或产物是水溶性的。

3. 如权利要求 2 所述的方法，其中，水溶性成分或产物选自由以下物质组成的组：生物碱、柠檬酸、果胶、类胡萝卜素、果胶酶、部分 1 蛋白、部分 2 蛋白和酚类化合物。

4. 如权利要求 1 ～ 3 中任一项所述的方法，其中，水溶性成分或产物为烟碱。

5. 如权利要求 1 ～ 4 中任一项所述的方法，其中，由所述固相产生的所述成分或产物为选自由以下物质组成的组中的有机分子：醇、醛、烷烃、烯烃、苯甲酸类化合物、羧酸、酮、多元醇。

6. 如权利要求 5 所述的方法，其中，所述有机分子为醇。

7. 如权利要求 6 所述的方法，其中，所述有机分子为乙醇。

8. 如权利要求 1 ～ 7 中任一项所述的方法，其中，在步骤 (a) 之前，处理所述生物质以回收油溶性成分或产物。

9. 如权利要求 8 所述的方法，其中，所述油溶性成分或产物选自由以下物质组成的组：茄尼醇和聚戊烯醇。

10. 如权利要求 1 ～ 9 中任一项所述的方法，其中，所述烟草生物质原料包含来自烟草属物种的植株或其部分。

11. 如权利要求 1 ～ 10 中任一项所述的方法，其中，所述烟草生物质原料包含至少 0.1 重量％烟碱。

12. 如权利要求 11 所述的方法，其中，所述烟草生物质原料还包含至少 25 重量％纤维素。

13. 如权利要求 12 所述的方法，其中，所述烟草生物质原料还包含至少 15 重量％半纤维素和至少 10 重量％木质素。

14. 如权利要求 1 ～ 13 中任一项所述的方法，其中，所述碱水溶液具有约 0.1M ～约 1.0M 的浓度。

15. 如权利要求 1 ～ 14 中任一项所述的方法，其中，在步骤 (a) 中，所述生物质－碱水溶液在约 100℃～约 200℃的温度进行处理。

16. 如权利要求 15 所述的方法，其中，所述溶液在约 120℃的温度进行处理。

17. 如权利要求 1 ～ 16 中任一项所述的方法，其中，在步骤 (a) 中，处理进行约 2 分钟～约 120 分钟的时间。

18. 如权利要求 17 所述的方法，其中，处理进行约 10 分钟。

19. 如权利要求 1 ～ 18 中任一项所述的方法，其中，所述碱水溶液添加至所述生物质中

以实现约 5 重量%～约 25 重量%固体含量的最终稀释。

20. 如权利要求 1 ～ 19 中任一项所述的方法，其中，所述碱水溶液为氢氧化钠溶液。

21. 如权利要求 1 ～ 20 中任一项所述的方法，其中，在步骤 (b) 中，通过过滤被处理的烟草生物质原料将所述液相与所述固相分离。

22. 如权利要求 1 ～ 21 中任一项所述的方法，其中，在步骤 (c) 中提取的至少一种成分或产物为烟碱，并且在步骤 (e) 中产生的至少一种成分或产物为乙醇。

23. 如权利要求 22 所述的方法，其中，提取的烟碱具有至少 95%的纯度，并且产生的乙醇具有至少 99%的纯度。

24. 一种聚对苯二甲酸乙二醇酯的生产方法，其中，所述方法包括以下步骤：

(a) 取用通过权利要求 1 ～ 23 中任一项所述的方法产生的乙醇；

(b) 与氧源在催化剂上反应以产生乙烯；

(c) 与催化剂液流源反应以产生乙二醇；和

(d) 与对苯二甲酸一起加热以产生聚对苯二甲酸乙二醇酯。

25. 一种聚合物，所述聚合物至少部分地由一种或多种有机前体合成，所述有机前体包含通过权利要求 1 ～ 23 中任一项所述的方法产生的至少一种有机分子。

26. 一种塑料，所述塑料由权利要求 25 所述的聚合物合成。

27. 一种烟碱替代产品，所述产品包含权利要求 26 的塑料。

28. 一种烟碱替代产品，所述产品包含烟碱和塑料，所述塑料至少部分地由一种或多种有机前体合成，其中所述烟碱和至少一种有机前体均由同一烟草生物质原料得到。

利用烟草的方法

[0001] 本发明涉及由烟草生物质得到成分或产物的方法。具体而言，本发明涉及由单一烟草生物质原料取得两种以上成分或产物的方法，其中，在所述方法中，至少一种成分或产品，例如烟碱，从液相中提取，并且至少一种成分或产品，例如醇等有机分子，由固相产生。产生的任何有机分子均优选用于生产能够结合至塑料中的聚合物。

背景技术

[0002] 吸烟是由于烟碱的刺激作用以及烟碱是高度成瘾性物质所导致的常见活动。然而，如一氧化碳和焦油等烟草烟雾的其他成分也严重损害人体健康。鉴于健康风险，吸烟的趋势在一些国家已经降低，而对能够仅提供烟碱的产品的需求已经升高。已开发出许多烟碱替代疗法，包括烟碱皮肤贴、含烟碱口香糖、烟碱药筒和烟碱吸入器。此外，仿真吸烟装置可以模拟吸烟活动，并具有在未来二十年间使用危害降低的替代物替代可燃烟草产品消费的潜力。

[0003] 用于这些替代疗法和吸烟装置的烟碱可以通过加工烟草生物质以产生纯化形式的烟碱而获得。从烟草植株提取烟碱的标准方法描述于 US 896,124、US 1,823,554 和 US 2,128,043 中。

[0004] 源于植物的生物质是有价值的可再生资源，并能用于生产如乙醇或“生物乙醇”等有机分子，所述有机分子可被用作生物燃料，或用作生产如生物塑料等材料及由其制造的产品。木质纤维素材料是最丰富的植物生物质资源。该材料的纤维素和半纤维素部分可以水解成如葡萄糖和木糖等糖，所述糖然后可通过发酵转化为乙醇。与使用木质纤维素植物材料相关的困难在于，纤维素和半纤维素通过木质素层而密堆积，这保护它们免于酶解。因此，该材料必须进行“预处理”步骤，以破坏木质纤维素生物质的结构，并促进该材料后续通过纤维素酶和半纤维素酶进行的水解。已研究了各种预处理方法，包括利用高温、压力爆破、利用酸和碱，和添加各种其他化学品。通常优选的是利用稀酸溶液，因为酸的成本较低。由植物木质纤维素生物质产生醇类的示例性方法描述于 US2010/0143974 和 WO2012/047832 中。

[0005] 一些需要大量包装材料的公司已经开始由植物生物质获得其塑料。例如，作为 US2009/0246430 的主题，Coca-Cola PlantBottle 就是使用来自如甘蔗等植物的生物质。在 PepsiCo 开发的可再生包装中，将如玉米皮等农业废品用作生物质来源。

[0006] 烟草植物以前被描述为用于生产燃料乙醇的木质纤维素生物质来源。在 C. Martín et al., World J. Microb. Biot. 2002, 18, 857 中描述了一种方法，其中通过蒸汽爆破预处理的烟草梗暴露于纤维素酶，水解产物随后发酵以获得乙醇。在 G. Shen et al., J. Food Process Eng. 2011, 34, 905 中，作者对于用于调查不同预处理条件对于后续烟草茎中纤维素的酶水解效率的影响进行的研究作了报道。发现与只用碱的预处理相比，过氧化氢的纳入提供了更高的纤维素回收率和更佳的木质素和半纤维素去除率。这使得由该生物质产生的可发酵糖的收率增加。

发明内容

[0007] 本发明建立在以下观察之上：现有的由烟草植株提取液相中的成分或产物的方法、特别是烟碱提取方法产生极大量残余固体材料，其通常被认作“废料”。另外，加工烟草植株以回收用于吸烟制品的叶子会留下包括茎、梗和根等植株类材料。

[0008] 将烟草植株作为整体考虑，其通常含有以干重计小于 2 重量％的烟碱。其余部分包括木质纤维素材料，其适合用于生产附加值产品的加工。对于烟草植株，附加值产品的回收仅在近来才开始被考虑，这主要是由于在用于吸烟制品时烟叶的历史上的高价值。然而，随着这些吸烟制品市场的萎缩，由这些以前被认作“废料”的成分中获取价值变得越发重要。

[0009] 烟碱提取方法通常获得包含烟碱的液相和包含木质纤维素物质的固体成分。由于用于提取方法的苛性碱溶液和有机溶剂所致，所产生的废料中有一些是有毒的。此外，所述固体物质通常被认为是废品，并被再循环或销售给农民作为肥料。

[0010] 此外，在例如 US896,124 中所述的一些烟碱提取方法中，其目标是要保留烟叶的完整性，以使烟叶之后可被用于吸烟应用。这些方法并未充分破坏木质素的结构以便有效水解多糖。

[0011] 如上所述，使用植物纤维素物质作为可再生资源产生有机前体以供制造生物类材料和包括生物燃料和生物塑料的产品，已因这类产品的环境效益而得到越来越多的关注。然而，本发明人已经注意到，现有的由烟草生物质获得如乙醇等有机分子的方法采用虽然在破坏生物质结构时非常有效却导致植物材料的半纤维素部分显著溶解的预处理步骤。这些溶解的糖和糖聚合物起到污染所产生的任何液体部分的作用，因此这类方法以前从未用于如烟碱等所关注的水溶性分子的联合提取。此外，US2002/0197688 教导了一种利用减少烟碱的重组烟草植株作为生物质来源通过发酵产生乙醇的方法，所述方法也降低了由生物质产生多种成分的可能。

[0012] 因此，本发明的一个目的是提供可以使用烟草生物质原料得到超过一种有用的物质或产品的方法。

[0013] 在第一方面中，本文提供一种由烟草生物质原料得到两种以上成分或产物的方法，其中，至少一种成分或产物从液相中提取，并且至少一种成分或产物由固相产生，其中，所述方法包括以下步骤：

[0014] (a) 使用碱水溶液处理该生物质原料，以产生液相和含有不溶的烟草纤维素材料的固相；

[0015] (b) 将该液相与该固相分离；

[0016] (c) 通过液－液或固相提取从液相中提取至少一种成分或产物；

[0017] (d) 将该固相与一种或多种能够水解该纤维素材料的酶接触，以产生可发酵糖；和

[0018] (e) 使该可发酵糖发酵，以由该固相产生至少一种成分或产物。

[0019] 优选的是，从该液相中提取的成分或产物为水溶性成分或产物，其可选地选自由生物碱、柠檬酸、果胶、类胡萝卜素、果胶酶、部分 1 蛋白、部分 2 蛋白和酚类化合物组成的组。作为另外一种选择或补充，由该固相产生的成分或产物为选自由醇、醛、烷烃、烯烃、苯甲酸类化合物、羧酸、酮、多元醇组成的组中的有机分子。在本发明的一个特别优选的实施

方式中，由该液相提取的成分或产物为烟碱，并且由该固相产生的成分或产物为乙醇。

[0020] 由本发明的方法产生的任何有机分子可以用于任何适当的下游应用。在本发明的优选实施方式中，该方法用于产生如乙醇等有机分子，其可用于生产生物类塑料。本文中所使用的术语“生物塑料”意指包含由生物类材料（包括但不限于源自植物生物质的醇、醛、烷烃、烯烃、苯甲酸类化合物、羧酸、酮或多元醇）得到的聚合物的任何塑料。生物塑料越来越受关注，因为它们代表着由如石油等不可再生天然资源得到的塑料的重要替代品。

[0021] 利用本发明的方法由烟草生物质生产的生物塑料可用于制造一系列不同产品。在本发明的优选实施方式中，所生产的生物塑料用于制造含有烟碱的产品。含有烟碱的产品包括烟碱吸入器，如描述于 WO2011/095781 中的仿真吸烟装置。

[0022] 如上所述，随着吸烟的减少，对于如烟碱药筒、烟碱吸入器和仿真吸烟装置等烟碱替代产品的需求趋势在增强。但是，这些产品中许多需要大量塑料包装和 / 或在其设计中包含大量塑料。本发明的方法可使含有塑料的烟碱替代疗法和装置所需的烟碱和塑料的有机前体均至少部分地由同一烟草生物质原料得到。

[0023] 因此，在本发明的第二方面中，本文提供一种烟碱替代产品，所述产品包含烟碱和至少部分地由一种或多种有机前体合成的塑料，其中，烟碱和至少有一种有机前体均由同一烟草生物质原料得到。

[0024] 在附加的环境效益方面，通过从烟草植株中得到除烟碱或吸用烟草之外的有用产物，本发明将代表对于当前用于烟草种植的耕地的更有效利用。

附图说明

[0025] 图 1. 从单一烟草生物质原料中提取烟碱和产生乙醇的方法的示意图。

具体实施方式

[0026] 本文提供一种由烟草生物质原料得到两种以上成分或产物的方法，其中，至少一种成分或产物由液相提取，并且至少一种成分或产物由固相产生。因此该方法可使两种以上成分或产物由同一初始材料（即，烟草生物质原料）获得。

[0027] 本文中所使用的术语“烟草生物质”意指由任何烟草属植物（包括但不限于普通烟草 (N. tabacum)、黄花烟草 (N. rustica) 和粘烟草 (N. glutinosa)）得到的生物质。可以使用的具体烟草品种的实例包括：明叶 (brightleaf)、白肋烟 (burley)、板烟 (cavendish)、corojo、克里奥 (criollo)、东方 (oriental)、帕里克 (perique)、佩蒂特哈瓦那 (petite Havana)、萨姆松 NN(Samsun NN)、SR1、老烟 (thuoc lao)、22 型 (type 22)、弗吉尼亚 (virginia)、白白肋烟 (white burley)、山烟草 (wild tobacco)、珊西 (Xanthi) 和 Y1。生物质可以由整个植株或其任何部分得到，包括但不限于叶、芽、花、茎、梗、根或其组合。生物质可以包括未加工烟草、烟草废料、风干烟、火烤烟、热风管烤烟、日晒烟或其组合。

[0028] “烟草生物质原料”或“烟草生物质投料”应被理解为指限定量的用作本发明的方法中的初始材料的生物质。烟草生物质原料具有包含至少 0.1 重量％烟碱的干物质，并可以由烟草生物质得到。然而，它可以还包括非烟草来源，如玉米秸秆、柳枝稷、甜菜、甘蔗渣、小麦渣和任何种类的农业废弃物。

[0029] 在一个优选实施方式中，烟草生物质原料具有包含至少 0.1 重量％烟碱和至少 25

重量%纤维素的干物质。在另一个优选实施方式中，烟草生物质原料具有包含至少 25 重量%纤维素、至少 15 重量%半纤维素、至少 10 重量%木质素和至少 0.1 重量%烟碱的干物质。

[0030] 烟草生物质可以通过任何标准收获技术获得。生物质或生物质原料可以在用碱处理之前进行洗涤，以除去任何残留的泥土和 / 或种植过程中使用的水溶性非系统性试剂。另外，可以将烟草生物质或生物质原料的尺寸减小，使其成为在所有维度均小于 15mm、优选在所有维度均小于 10mm 的碎片，以便于更好地接触该方法的后续步骤中所使用的试剂。任何适当的减小尺寸的方法均可以采用，包括但不限于削、砍、切、碾、磨碎和撕碎。

[0031] 作为另外一种选择或对洗涤和 / 或尺寸减小的补充，可以对用于本发明的方法的烟草生物质进行预加工，例如在处理之前除去或提取某些产物或成分。在本发明的某些实施方式中，生物质原料将进行预加工，以除去至少一种油溶性成分或产物，其可选地选自茄尼醇和聚戊烯醇。这种预加工步骤可以包括在进行如下所述的本发明的方法的步骤 (a) ～ (e) 之前，将生物质原料浸泡在弱碱溶液中预定时间。

[0032] 本发明的方法包括以下步骤：

[0033] (a) 使用碱水溶液处理该生物质原料，以产生液相和含有不溶的烟草纤维素材料的固相；

[0034] (b) 将该液相与该固相分离；

[0035] (c) 通过液 - 液或固相提取从液相中提取至少一种成分或产物；

[0036] (d) 将该固相与一种或多种能够水解该纤维素材料的酶接触，以产生可发酵糖；和

[0037] (e) 使该可发酵糖发酵，以由该固相产生至少一种成分或产物。

[0038] 处理生物质原料

[0039] 作为本发明的方法中的第一步骤，在可使生物质中可溶性成分溶解同时破坏该生物质的木质纤维素结构的条件下使用碱水溶液处理该生物质原料。

[0040] 该处理步骤产生包含烟草生物质原料的可溶性成分的液相，和含有不溶的烟草纤维素材料的固相。该生物质原料的可溶性成分可以是如下文中将进一步详述的水溶性成分。

[0041] 重要的是，在处理过程中，木质素充分降解，以使不溶的烟草纤维素材料在该方法的后续步骤中被如纤维素酶和半纤维素酶等酶水解。本发明的方法通常除去至少 30％存在于该生物质中的木质素。该处理步骤中的条件优选为使得糖聚合物（如纤维素和半纤维素）对于液相的溶解和后续损失最小化。重要的是，在生物质原料的处理过程中，烟草生物质原料的尽可能多的含糖部分保持在固相中，以用于包括水解和发酵的下游加工步骤。

[0042] 所述碱水溶液可以具有约 0.01M ～约 2.0M、优选约 0.1M ～约 1.0M 的浓度。可以使用任何适当的碱溶液。可用于本发明的方法的碱的实例包括但不限于氨、氢氧化铵、氢氧化钙、氧化钙、氢氧化钾和氢氧化钠。在一个优选实施方式中，碱溶液为浓度为约 0.1M ～约 1.0M、优选 0.5M 的氢氧化钠溶液。

[0043] 在一个优选实施方式中，将碱溶液添加至该生物质，以实现约 5 重量％～约 25 重量％固体含量、优选约 10 重量％～约 20 重量％、更优选约 12 重量％固体含量的最终稀释。

[0044] 在该方法的第一步骤中，生物质 - 碱溶液可以在约 100℃～约 200℃的温度、优

选约 100℃～约 150℃或者其间的任何温度（包括但不限于 100℃、105℃、110℃、115℃、120℃、125℃、130℃、135℃、140℃、145℃或 150℃）处理约 2 分钟～约 120 分钟的时间，优选约 2 分钟～约 20 分钟，优选约 6 分钟～约 20 分钟或者其间的任何时间，包括但不限于 6 分钟、8 分钟、10 分钟、12 分钟、14 分钟、16 分钟、18 分钟或 20 分钟。溶液的温度然后可以降至约 25℃～约 50℃，以便于该处理材料的后续处置。

[0045] 在一个实施方式中，该处理在压力容器中进行，并且在处理过程中搅拌生物质－碱溶液。

[0046] 分离液相和固相

[0047] 在使用碱水溶液处理生物质原料之后，则生成两相：包含碱溶液和来自存在于其中的烟草生物质的可溶性成分或产物或水溶性产物的液相，和含有不溶的烟草纤维素材料的经处理的固相。这两相可以通过本领域技术人员所知的任何适当技术分离。例如，可以单独或组合利用任何以下装置来进行液－固分离步骤：离心分离机、滤布、滤纸、压滤机、多孔漏斗、膜、网、筛滤器、分液漏斗、筛或撇渣器。分离技术可以利用重力流动、离心力或外部施加的压力。

[0048] 与最初的有机生物质原料相比，经处理的固相能够被限定。经处理的固相将具有降低的烟碱、多糖和木质素含量（与最初的生物质原料相比）。优选的是，经处理的固相的烟碱减少至少 70％，多糖减少小于 20％，并且木质素减少至少 30％（与最初的生物质原料相比）。

[0049] 可从液相中得到的成分或产物通常包括生物碱、类胡萝卜素、柠檬酸、部分 1 蛋白、部分 2 蛋白、木质素、烟碱、果胶酶、果胶和酚类化合物。在某些实施方式中，本发明的方法的一个目的是提取或分离选自包括生物碱、类胡萝卜素、柠檬酸、部分 1 蛋白、部分 2 蛋白、木质素、烟碱、果胶酶、果胶、酚类化合物的组中的至少一种水溶性成分或产物或者来自包括聚戊烯醇和茄尼醇的组中的油提取化合物。在本发明的一个优选实施方式中，要提取的水溶性成分为烟碱。

[0050] 在本发明的一个实施方式中，通过过滤碱处理的生物质、优选通过滤布层过滤而将液相与固相分离。含有不溶的烟草纤维素材料的固相随后可以例如用水洗涤。洗涤可以根据需要重复一次或多次，以在液相中回收尽可能多的来自生物质的所期望的可溶性成分。

[0051] 提取可溶性成分

[0052] 所关注的可溶性成分或产物、优选水溶性成分或产物，可以通过任何适当的液－液或固相提取技术而从液相中提取。在某些实施方式中，从液相中提取目标产物可以通过将该液体与有机溶剂接触而实现。适当的有机溶剂包括但不限于长碳链烃，如己烷、煤油、石蜡和甲苯或其混合物。该有机－水混合物可以进行离心分离，或在重力下沉降，以实现相分离。有机相可以通过分液漏斗分离，或者通过泵吸或重力从反应容器中移出。可选的是，可以进行对所收集的水相的进一步加工，以提取残留的可溶性或水溶性成分，或者在所述方法的发酵阶段或任何其他阶段将成分再循环回方法中。随后可以使有机相与 pH 1.0 ～ 7.0 的酸化溶液接触。适当的酸包括但不限于乙酸、柠檬酸、盐酸、磷酸或硫酸。该有机－水混合物可以进行离心分离，或在重力下沉降，以实现相分离。有机相可以通过分液漏斗分离，或者通过泵吸或重力从反应容器中移出。然后可选的是该有机相可以被回收和

再循环以用于该方法。可选的是，可以使用任何适当的碱来中和含有目标产物的酸化溶液。适当的碱的实例包括但不限于氨、碳酸钙和碳酸钠。作为另外一种选择，可以在无需中和与进一步纯化的情况下将目标成分或产物浓缩并就这样销售，以提供至少 40％目标可溶性分子的浓度。可选的是，然后可以利用并未穷举的以下方法，进一步纯化被中和的水相，以提供 90％～ 99.9％、优选 95％～ 99.9％、进而更优选 98％～ 99.9％的纯度：稀释回收含有目标化合物的部分，例如利用在大气压下的蒸馏及其后的真空蒸馏，或者利用高压蒸汽蒸馏来进行。

[0053] 作为另外一种选择，目标成分或产物、优选水溶性产物可以通过利用固相提取或超临界流体提取，例如通过将色谱柱用于固相提取和将超临界二氧化碳用于超临界流体提取，从液相中提取。

[0054] 其中，要提取的可溶性成分或产物为烟碱，该提取可以通过下述方式进行：使该液相与石蜡接触、离心分离该混合物、收集含石蜡的相和与 0.1M 硫酸接触、离心分离该混合物、收集含硫酸相并用碱中和、在约 125℃蒸馏直至除去水、在约 125℃和约 1.6kPa 真空蒸馏，并收集含烟碱馏分。

[0055] 相对于干生物质中所含烟碱的重量百分比算出的烟碱收率通常为至少 70％，优选至少 80％，更优选至少 90％。本发明的方法通常将获得纯度为至少 40％、优选至少 95％、更优选至少 99％的烟碱。

[0056] 水解纤维素材料

[0057] 使用能够将固相中的纤维素材料转化为可发酵糖的水解酶处理由液相－固相分离获得的固相。此处所使用的术语“可发酵糖”应被理解为指能够在发酵过程中通过微生物而用作碳源的任何寡糖或单糖。

[0058] 可选的是，由液相－固相分离获得的固相可以在与水解酶接触之前进行蒸压。在一个实施方式中，该固相在与水解酶接触之前在约 121℃蒸压约 15 分钟。该固相可以在溶液中稀释至约 5 重量％～约 25 重量％，优选约 10 重量％～ 20 重量％。

[0059] 此处所使用的术语“水解酶”应被理解为指能够水解半纤维素（半纤维素酶）和/或纤维素（纤维素酶）的任何酶或酶混合物。纤维素酶可以包括下述种类的酶：内切葡聚糖酶、外切纤维素酶和纤维二糖酶。半纤维素酶包括木聚糖酶、半乳糖苷酶、甘露聚糖酶、阿拉伯糖酶等。例如，适当的商品酶包括但不限于 cellic Ctec2®、cellic Ctec 3®、cellic Htec 2®、cellic Htec3® (Novozymes Bagsvaerd, 丹麦)、accellerase duet®、accellerase trio® (Genencor Palo Alto,CA USA)、celu star CL、celu star XL、cellulase plus、xylanase plus(Dyadic Jupiter,FL USA)。对于本方法，所使用的酶可以来自任何来源，适当来源的实例包括但不限于曲霉 (Aspergillus) 和木霉属 (Trichoderma)。纤维素酶和半纤维素酶用于反应的剂量取决于具体酶菌株将纤维素和半纤维素转化为可发酵糖的能力，例如，其范围可以为约 1:20 ～约 1:5 的酶与固体生物质之重量比，其中纤维素酶：半纤维素酶之比根据所使用的具体种类的生物质确定，例如纤维素酶：半纤维素酶之比为 1:5 ～ 5:1。

[0060] 在所述方法的水解步骤中通常调整固相的 pH 和温度，以使其处于最适合所使用的水解酶的范围之内。在一个实施方式中，该固相的 pH 被调节在约 pH 2.0 ～约 pH 8.0 范围内，优选在约 pH 2.0 ～约 pH 7.0 范围内，更优选在约 pH 4.0 ～约 pH 6.0 范围内，或者

为其间的任何 pH。作为另外一种选择或补充，温度可以在约 30℃～约 75℃范围内，优选在约 40℃～约 60℃范围内，或者其间的任何温度，包括但不限于 40℃、45℃、50℃或 55℃。可以将该固相与酶在本领域技术人员已知的任何适当缓冲液中混合，所述缓冲液包括但不限于柠檬酸盐缓冲液和磷酸盐缓冲液。在一个优选实施方式中，使该固相与水解酶在具有所期望的 pH 和温度的约 0.1M 柠檬酸盐缓冲液存在下接触，使得混合物的固体成分不超过 20 重量％。酶与固体成分的重量比可以为 1/20 ～ 1/5。

[0061] 可以使该固相与水解酶接触任何适当长度的时间，以实现纤维素材料向可发酵糖的转化。可发酵糖可以包括：葡萄糖、木糖、半乳糖、阿拉伯糖、果糖、葡糖醛酸、甘露糖或这些单糖的任何寡糖形式。

[0062] 在本发明的一个优选实施方式中，至少 50％、优选至少 60％、更优选至少 70％、80％的多糖将降解，并且所获得的包含可发酵糖的降解产物可以采用本文所述的方法在水解产物中回收。

[0063] 在一个实施方式中，温育该混合物（可选地在搅拌下）约 0.5 天～约 5 天的时间。

[0064] 发酵

[0065] 在酶水解后，使含有可发酵糖的水解产物发酵，以产生至少一种成分或产物，通常为有机分子。可以在用于发酵之前先将水解产物稀释。发酵可以通过添加能够将该可发酵糖转化为有机分子的任何天然存在或基因改造的微生物来进行。此处所使用的术语“有机分子”应被理解为指选自由以下分子组成的组中的分子：醇、醛、烷烃、烯烃、苯甲酸类化合物、羧酸、酮或多元醇。例如，可以产生如乙醇和丁醇等醇、如丁二醇和丙二醇等多元醇、如甲烷等烷烃、如乙烯和丙烯等烯烃和如柠檬酸和乳酸等羧酸。在某些实施方式中，有机分子可以选自由以下分子组成的组：甲烷、甲醇、乙烷、乙烯、乙醇、正丙烷、1- 丙烯、1- 丙醇、丙醛、丙酮、丙酸酯、正丁烷、1- 丁烯、1- 丁醇、丁醛、丁酸酯、异丁醛、异丁醇、2- 甲基丁醛、2- 甲基丁醇、3- 甲基丁醛、3- 甲基丁醇、2- 丁烯、2- 丁醇、2- 丁酮、2,3- 丁二醇、3- 羟基 -2- 丁酮、2,3- 丁二酮、乙基苯、乙烯基苯、2- 苯基乙醇、苯基乙醛、1- 苯基丁烷、4- 苯基 -1- 丁烯、4- 苯基 -2- 丁烯、1- 苯基 -2- 丁烯、1- 苯基 -2- 丁醇、4- 苯基 -2- 丁醇、1- 苯基 -2- 丁酮、4- 苯基 -2- 丁酮、1- 苯基 -2,3- 丁二醇、1- 苯基 -3- 羟基 -2- 丁酮、4- 苯基 -3- 羟基 -2- 丁酮、1- 苯基 -2,3- 丁二酮、正戊烷、乙基苯酚、乙烯基苯酚、2-(4- 羟基苯基）乙醇、4- 羟基苯基乙醛、1-(4- 羟基苯基）丁烷、4-(4- 羟基苯基）-1- 丁烯、4-(4- 羟基苯基）-2- 丁烯、1-(4- 羟基苯基）-1- 丁烯、1-(4- 羟基苯基）-2- 丁醇、4-(4- 羟基苯基）-2- 丁醇、1-(4- 羟基苯基）-2- 丁酮、4-(4- 羟基苯基）-2- 丁酮、1-(4- 羟基苯基）-2,3- 丁二醇、1-(4- 羟基苯基）-3- 羟基 -2- 丁酮、4-(4- 羟基苯基）-3- 羟基 -2- 丁酮、1-(4- 羟基苯基基）-2,3- 丁二酮、吲哚基乙烷、吲哚基乙烯、2-（吲哚 -3-）乙醇、正戊烷、1- 戊烯、1- 戊醇、戊醛、戊酸酯、2- 戊烯、2- 戊醇、3- 戊醇、2- 戊酮、3- 戊酮、4- 甲基戊醛、4- 甲基戊醇、2,3- 戊二醇、2- 羟基 -3- 戊酮、3- 羟基 -2- 戊酮、2,3- 戊二酮、2- 甲基戊烷、4- 甲基 -1- 戊烯、4- 甲基 -2- 戊烯、4- 甲基 -3- 戊烯、4- 甲基 -2- 戊醇、2- 甲基 -3- 戊醇、4- 甲基 -2- 戊酮、2- 甲基 3- 戊酮、4- 甲基 -2,3- 戊二醇、4- 甲基 -2- 羟基 -3- 戊酮、4- 甲基 -3- 羟基 -2- 戊酮、4- 甲基 -2,3- 戊二酮、1- 苯基戊烷、1- 苯基 -1- 戊烯、1- 苯基 -2- 戊烯、1- 苯基 -3- 戊烯、1- 苯基 -2- 戊醇、1- 苯基 -3- 戊醇、1- 苯基 -2- 戊酮、1- 苯基 -3- 戊酮、1- 苯基 -2,3- 戊二醇、1- 苯基 -2- 羟基 -3- 戊酮、1- 苯基 -3- 羟基 -2- 戊酮、

1- 苯基 -2,3- 戊二酮、4- 甲基 -1- 苯基戊烷、4- 甲基 -1- 苯基 -1- 戊烯、4- 甲基 -1- 苯基 -2- 戊烯、4- 甲基 -1- 苯基 -3- 戊烯、4- 甲基 -1- 苯基 -3- 戊醇、4- 甲基 -1- 苯基 -2- 戊醇、4- 甲基 -1- 苯基 -3- 戊酮、4- 甲基 -1- 苯基 -2- 戊酮、4- 甲基 -1- 苯基 -2,3- 戊二醇、4- 甲基 -1- 苯基 -2,3- 戊二酮、4- 甲基 -1- 苯基 -3- 羟基 2- 戊酮、4- 甲基 -1- 苯基 -2- 羟基 -3- 戊酮、1-(4- 羟基苯基) 戊烷、1-(4- 羟基苯基)-1- 戊烯、1-(4- 羟苯基)-2- 戊烯、1-(4- 羟基苯基)-3- 戊烯、1-(4- 羟基苯基)-2- 戊醇、1-(4- 羟基苯基)-3- 戊醇、1-(4- 羟基苯基)-2- 戊酮、1-(4- 羟基苯基)-3- 戊酮、1-(4- 羟基苯基)-2,3- 戊二醇、1-(4- 羟基苯基)-2- 羟基 -3- 戊酮、1-(4- 羟基苯基)-3- 羟基 -2- 戊酮、1-(4- 羟基苯基)-2,3- 戊二酮、4- 甲基 -1-(4- 羟苯基) 戊烷、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2- 戊烯、4- 甲基 -1-(4- 羟苯基)-3- 戊烯、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-1- 戊烯、4- 甲基 -1-(4- 羟苯基)-3- 戊醇、4- 甲基 -1-(4- 羟苯基)-2- 戊醇、4- 甲基 -1-(4- 羟苯基)-3- 戊酮、4- 甲基 -1-(4- 羟苯基)-2- 戊酮、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2,3- 戊二醇、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2,3- 戊二酮、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-3- 羟基 -2- 戊酮、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2- 羟基 -3- 戊酮、1- 吲哚 -3- 戊烷、1-(吲哚 -3)-1- 戊烯、1-(吲哚 -3)-2- 戊烯、1-(吲哚 -3)-3- 戊烯、1-(吲哚 -3)-2- 戊醇、1-(吲哚 -3)-3- 戊醇、1-(吲哚 -3)-2- 戊酮、1-(吲哚 -3)-3- 戊酮、1-(吲哚 -3)-2,3- 戊二醇、1-(吲哚 -3)-2- 羟基 -3- 戊酮、1-(吲哚 -3)-3- 羟基 -2- 戊酮、1-(吲哚 -3)-2,3- 戊二酮、4- 甲基 -1-(吲哚 -3) 戊烷、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2- 戊烯、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-3- 戊烯、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-1- 戊烯、4- 甲基 -2-(吲哚 -3)-3- 戊醇、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2- 戊醇、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-3- 戊酮、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2- 戊酮、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2,3- 戊二醇、4- 甲基 -1-(吲哚 -3- 基)-2,3- 戊二酮、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-3- 羟基 -2- 戊酮、正己烷、1- 己烯、1- 己醇、己醛、己酸酯、2- 己烯、3- 己烯、2- 己醇、3- 己醇、2- 己酮、3- 己酮、2,3- 己二醇、2,3- 己二酮、3,4- 己二醇、3,4- 己二酮、2- 羟基 -3- 己酮、3- 羟基 -2- 己酮、3- 羟基 -4- 己酮、4- 羟基 -3- 己酮、2- 甲基己烷、3- 甲基己烷、2- 甲基 -2- 己烯、2- 甲基 -3- 己烯、5- 甲基 -1- 己烯、5- 甲基 -2- 己烯、4- 甲基 -1- 己烯、4- 甲基 -2- 己烯、3- 甲基 -3- 己烯、3- 甲基 -2- 己烯、3- 甲基 -1- 己烯、2- 甲基 -3- 己醇、5- 甲基 -2- 己醇、5- 甲基 -3- 己醇、2- 甲基 -3- 己酮、5- 甲基 -2- 己酮、5- 甲基 -3- 己酮、2- 甲基 -3,4- 己二醇、2- 甲基 -3,4- 己二酮、5- 甲基 -2,3- 己二醇、5- 甲基 -2,3- 己二酮、4- 甲基 -2,3- 己二醇、4- 甲基 -2,3- 己二酮、2- 甲基 -3- 羟基 -4- 己酮、2- 甲基 -4- 羟基 -3- 己酮、5- 甲基 -2- 羟基 -3- 己酮、5- 甲基 -3- 羟基 -2- 己酮、4- 甲基 -2- 羟基 -3- 己酮、4- 甲基 -3- 羟基 -2- 己酮、2,5- 二甲基己烷、2,5- 二甲基 -2- 己烯、2,5- 二甲基 -3- 己烯、2,5- 二甲基 -3- 己醇、2,5- 二甲基 -3- 己酮、2,5- 二甲基 -3,4- 己二醇、2,5- 二甲基 -3,4- 己二酮、2,5- 二甲基 -3- 羟基 -4- 己酮、5- 甲基 -1- 苯基己烷、4- 甲基 -1- 苯基己烷、5- 甲基 -1- 苯基 -1- 己烯、5- 甲基 -1- 苯基 -2- 己烯、5- 甲基 -1- 苯基 -3- 己烯、4- 甲基 -1- 苯基 -1- 己烯、4- 甲基 -1- 苯基 -2- 己烯、4- 甲基 -1- 苯基 3- 己烯、5- 甲基 -1- 苯基 -2- 己醇、5- 甲基 -1- 苯基 -3- 己醇、4- 甲基 -1- 苯基 -2- 己醇、4- 甲基 -1- 苯基 -3- 己醇、5- 甲基 -1- 苯基 -2- 己酮、5- 甲基 -1- 苯基 -3- 己酮、4- 甲基 -1- 苯基 -2- 己酮、4- 甲基 -1- 苯基 -3- 己酮、5- 甲基 -1- 苯基 -2,3- 己二醇、4- 甲基 -1- 苯基 -2,3- 己二醇、5- 甲基 -1- 苯基 -3- 羟基 -2- 己酮、5- 甲基 -1- 苯基 -2- 羟基 -3- 己酮、4- 甲基 1- 苯基 -3- 羟基 -2- 己酮、4- 甲基 -1- 苯基 -2- 羟基 -3- 己

酮、5- 甲基 -1- 苯基 -2,3- 己二酮、4- 甲基 -1- 苯基 2,3- 己二酮、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基) 己烷、5- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-1- 己烯、5- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2- 己烯、5- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-3- 己烯、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-1- 己烯、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2- 己烯、4- 甲基 -1-(4- 羟苯基)-3- 己烯、5- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2- 己醇、5- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-3- 己醇、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2- 己醇、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-3- 己醇、5- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2- 己酮、5- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-3- 己酮、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2- 己酮、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-3- 己酮、5- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2,3- 己二醇、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2,3- 己二醇、5- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-3- 羟基 -2- 己酮、5- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2- 羟基 -3- 己酮、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-3- 羟基 -2- 己酮、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2- 羟基 -3- 己酮、5- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2,3- 己二酮、4- 甲基 -1-(4- 羟基苯基)-2,3- 己二酮、4- 甲基 -1-(吲哚 -3-) 己烷、5- 甲基 -1-(吲哚 -3-)-1- 己烯、5- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2- 己烯、5- 甲基 -1-(吲哚 -3)-3- 己烯、4- 甲基 1-(吲哚 -3)-1- 己烯、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2- 己烯、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-3- 己烯、5- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2- 己醇、5- 甲基 -1-(吲哚 -3)-3- 己醇、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2- 己醇、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-3- 己醇、5- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2- 己酮、5- 甲基 -1-(吲哚 -3)-3- 己酮、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2- 己酮、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-3- 己酮、5- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2,3- 己二醇、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2,3- 己二醇、5- 甲基 -1-(吲哚 -3)-3- 羟基 -2- 己酮、5- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2- 羟基 -3- 己酮、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-3- 羟基 -2- 己酮、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2- 羟基 -3- 己酮、5- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2,3- 己二酮、4- 甲基 -1-(吲哚 -3)-2,3- 己二酮、正庚烷、1- 庚烯、1- 庚醇、庚醛、庚 -2- 庚烯、3- 庚烯、2- 庚醇、3- 庚醇、4- 庚醇、2- 庚酮、3- 庚酮、4- 庚酮、2,3- 庚二醇、2,3- 庚二酮、3,4- 庚二醇、3,4- 庚二酮、2- 羟基 -3- 庚酮、3- 羟基 -2- 庚酮、3- 羟基 -4- 庚酮、4- 羟基 -3- 庚酮、2- 甲基庚烷、3- 甲基庚烷、6- 甲基 -2- 庚烯、6- 甲基 3- 庚烯、2- 甲基 -3- 庚烯、2- 甲基 -2- 庚烯、5- 甲基 -2- 庚烯、5- 甲基 -3- 庚烯、3- 甲基 -3- 庚烯、2- 甲基 -3- 庚醇、2- 甲基 -4- 庚醇、6- 甲基 -3- 庚醇、5- 甲基 -3- 庚醇、3- 甲基 -4- 庚醇、2- 甲基 -3- 庚酮、2- 甲基 -4- 庚酮、6- 甲基 -3- 庚酮、5- 甲基 -3- 庚酮、3- 甲基 -4- 庚酮、2- 甲基 -3,4- 庚二醇、2- 甲基 -3,4- 庚二酮、6- 甲基 -3,4- 庚二醇、6- 甲基 -3,4- 庚二酮、5- 甲基 -3,4- 庚二醇、5- 甲基 -3,4- 庚二酮、2- 甲基 -3- 羟基 -4- 庚酮、2- 甲基 4- 羟基 -3- 庚酮、6- 甲基 -3- 羟基 -4- 庚酮、6- 甲基 -4- 羟基 -3- 庚酮、5- 甲基 -3- 羟基 -4- 庚酮、5- 甲基 -4- 羟基 -3- 庚酮、2,6- 二甲基庚烷、2,5- 二甲基庚烷、2,6- 二甲基 -2- 庚烯、2,6- 二甲基 -3- 庚烯、2,5- 二甲基 -2- 庚烯、2、5- 二甲基 -3- 庚烯、3,6- 二甲基 -3- 庚烯、2,6- 二甲基 -3- 庚醇、2,6- 二甲基 -4- 庚醇、2,5- 二甲基 -3- 庚醇、2-,5- 二甲基 -4- 庚醇、2,6- 二甲基 -3,4- 庚二醇、2,6- 二甲基 -3,4- 庚二酮、2,5- 二甲基 -3,4- 庚二醇、2,5- 二甲基 -3,4- 庚二酮、2,6- 二甲基 -3- 羟基 -4- 庚酮、2,6- 二甲基 -4- 羟基 -3- 庚酮、2,5- 二甲基 -3- 羟基 -4- 庚酮、2,5- 二甲基 -4- 羟基 -3- 庚酮、正辛烷、1- 辛烯、2- 辛烯、1- 辛醇、辛醛、辛酸酯、3- 辛烯、4- 辛烯、4- 辛醇、4- 辛酮、4,5- 辛二醇、4,5- 辛二酮、4- 羟基 -5- 辛酮、2- 甲基辛烷、2- 甲基 -3- 辛烯、2- 甲基 -4- 辛烯、7- 甲基 -3- 辛烯、3- 甲基 -3- 辛烯、3- 甲基 -4- 辛烯、6- 甲基 -3- 辛烯、2- 甲基 -4- 辛醇、7- 甲基 -4- 辛醇、3- 甲基 -4- 辛醇、6- 甲基 -4- 辛醇、2- 甲基 -4- 辛酮、7- 甲基 -4- 辛酮、3- 甲基 -4- 辛酮、6- 甲基 -4- 辛酮、

2- 甲基 -4,5- 辛二醇、2- 甲基 -4,5- 辛二酮、3- 甲基 -4,5- 辛二醇、3- 甲基 -4,5- 辛二酮、2- 甲基 -4- 羟基 -5- 辛酮、2- 甲基 -5- 羟基 -4- 辛酮、3- 甲基 -4- 羟基 -5- 辛酮、3- 甲基 -5- 羟基 -4- 辛酮、2,7- 二甲基辛烷、2,7- 二甲基 -3- 辛烯、2,7- 二甲基 -4- 辛烯、2,7- 二甲基 -4- 辛醇、2,7- 二甲基 -4- 辛酮、2,7- 二甲基 -4,5- 辛二醇、2,7- 二甲基 -4,5- 辛二酮、2,7- 二甲基 -4- 羟基 -5- 辛酮、2,6- 二甲基辛烷、2,6- 二甲基 -3- 辛烯、2,6- 二甲基 -4- 辛烯、3,7- 二甲基 -3- 辛烯、2,6- 二甲基 -4- 辛醇、3,7- 二甲基 -4- 辛醇、2,6- 二甲基 -4- 辛酮、3,7- 二甲基 4- 辛酮、2,6- 二甲基 -4,5- 辛二醇、2,6- 二甲基 -4,5- 辛二酮、2,6- 二甲基 -4- 羟基 -5- 辛酮、2,6- 二甲基 -5-2- 羟基 -4- 辛酮、3,6- 二甲基辛烷、3,6- 二甲基 -3- 辛烯、3,6- 二甲基 -4- 辛烯、3,6- 二甲基 -4- 辛醇、3,6- 二甲基 -4- 辛酮、3,6- 二甲基 -4,5- 辛二醇、3,6- 二甲基 -4,5- 辛二酮、3,6- 二甲基 -4- 羟基 -5- 辛酮、正壬烷、1- 壬烯、1- 壬醇、壬醛、壬酸酯、2- 甲基壬烷、2- 甲基 -4- 壬烯、2- 甲基 -5- 壬烯、8- 甲基 -4- 壬烯、2- 甲基 -5- 壬醇、8- 甲基 -4- 壬醇、2- 甲基 -5- 壬酮、8- 甲基 -4- 壬酮、8- 甲基 -4,5- 壬二醇、8- 甲基 -4,5- 壬二酮、8- 甲基 -4- 羟基 -5- 壬酮、8- 甲基 -5- 羟基 -4- 壬酮、2,8- 二甲基壬烷、2,8- 二甲基 -3- 壬烯、2,8- 二甲基 -4- 壬烯、2,8- 二甲基 -5- 壬烯、2,8- 二甲基 -4- 壬醇、2,8- 二甲基 -5- 壬醇、2,8- 二甲基 -4- 壬酮、2,8- 二甲基 -5- 壬酮、2,8- 二甲基 -4,5- 壬二醇、2,8- 二甲基 -4,5- 壬二酮、2,8- 二甲基 -4- 羟基 -5- 壬酮、2,8- 二甲基 -5- 羟基 -4- 壬酮、2,7- 二甲基壬烷、3,8 二甲基 -3- 壬烯、3,8- 二甲基 -4- 壬烯、3,8- 二甲基 -5- 壬烯、3,8- 二甲基 -4- 壬醇、3,8- 二甲基 -5- 壬醇、3,8 二甲基 -4- 壬酮、3,8- 二甲基 -5- 壬酮、3,8- 二甲基 -4,5- 壬二醇、3,8- 二甲基 -4,5- 壬二酮、3,8- 二甲基 -4- 羟基 -5- 壬酮、3,8- 二甲基 -5- 羟基 -4- 壬酮、正癸烷、1- 癸烯、1- 癸醇、癸酸酯、2,9- 二甲基硅烷、2,9- 二甲基 -3- 癸烯、2,9- 二甲基 -4- 癸烯、2,9- 二甲基 -5- 癸醇、2,9- 二甲基 -5- 癸酮、2,9- 二甲基 -5,6- 癸二醇、2,9- 二甲基 -6- 羟基 -5- 癸酮、2,9- 二甲基 -5,6- 癸二酮、正十一烷、1- 十一碳烯、1- 十一烷醇、十一烷醛、十一烷酸酯、正十二烷、1- 十二碳烯、1- 十二烷醇、十二烷醛、十二烷酸酯、正十二烷、1- 十二碳烯、1- 十二烷醇、十二烷醛、十二烷酸酯、正十三烷、1- 十三碳烯、1- 十三烷醇、十三烷醛、十三烷酸酯、正十四烷、1- 十四碳烯、1- 十四烷醇、十四烷醛、十四烷酸酯、正十五烷、1- 十五烯、1- 十五烷醇、十五烷醛、十五烷酸酯、正十六烷、1- 十六碳烯、1- 十六烷醇、十六烷醛、十六烷酸酯、正十七烷、1- 十七碳烯、1- 十七烷醇、十七烷醛、十七烷酸酯、正十八烷、1- 十八碳烯、1- 十八烷醇、十八烷醛、十八烷酸酯、正十九烷、1- 十九碳烯、1- 十九烷醇、十九烷醛、十九烷酸酯、二十烷、1- 二十碳烯、1- 二十烷醇、二十烷醛、二十烷酸酯、3- 羟基丙醛、1,3- 丙二醇、4- 羟基丁醛、1,4- 丁二醇、3- 羟基 -2- 丁酮、2-,3- 丁二醇、1,5- 戊二醇、高柠檬酸酯、高异柠檬酸酯、b- 羟基己二酸酯、戊二酸酯、戊二半醛 (glutarsemialdehyde)、戊二醛、2- 羟基 -1- 环戊酮、1,2- 环戊烷、环戊酮、环戊醇、(S)-2- 乙酰乳酸酯、(R)-2,3- 二羟基 - 异戊酸酯、2- 氧异戊酸酯、异丁酰 -CoA、异丁酸酯、异丁醛、5- 氨基戊醛、1,10- 二氨基癸烷、1,10- 二氨基 -5- 癸烯、1,10 二氨基 -5- 羟基癸烷、1,10- 二氨基 -5- 癸酮、1,10- 二氨基 -5,6- 癸二醇、1,10- 二氨基 -6- 羟基 -5- 癸酮、苯乙醛、1,4- 苯基丁烷、1,4- 二苯基 -1- 丁烯、1,4- 二苯基 -2- 丁烯、1,4- 二苯基 -2- 丁醇、1,4- 二苯基 -2- 丁酮、1,4- 二苯基 -2,3- 丁二醇、1,4- 二苯基 -3- 羟基 -2- 丁酮、1-(4- 羟基苯基)-4- 苯基丁烷、1-(4- 羟基苯基)-4- 苯基 -1- 丁烯、1-(4- 羟基苯基)-4- 苯基 -2- 丁烯、1-(4- 羟基苯基)-4- 苯基 -2- 丁醇、1-(4- 羟基苯基)-4- 苯基 -2- 丁酮、

1-(4-羟基苯基)-4-苯基-2,3-丁二醇、1-(4-羟基苯基)-4-苯基-3-羟基-2-丁酮、1-(吲哚-3)-4-苯基丁烷、1-(吲哚-3)-4-苯基-1-丁烯、1-(吲哚-3)-4-苯基-2-丁烯、1-(吲哚-3)-4-苯基-2-丁醇、1-(吲哚-3)-4-苯基-2-丁酮、1-(吲哚-3)-4-苯基-2,3-丁二醇、1-(吲哚-3)-4-苯基-3-羟基-2-丁酮、4-羟基苯基乙酰乙醛、1,4-二(4-羟基苯基)丁烷、1,4-二(4-羟基苯基)-1-丁烯、1,4-二(4-羟基苯基)-2-丁烯、1、4-二(4-羟基苯基)-2-丁醇、1,4-二(4-羟基苯基)-2-丁酮、1,4-二(4-羟基苯基)-2,3-丁二醇、1,4-二(4-羟基苯基)-3-羟基-2-丁酮、1-(4-羟基苯基)-4-(吲哚-3)丁烷、1-(4-羟基苯基)-4-(吲哚-3)-1-1-丁烯、1-二(4-羟基苯基)-4-(吲哚-3)-2-丁烯、1-(4-羟基苯基)-4-(吲哚-3)-2-丁醇、1-(4-羟基苯基)-4-(吲哚-3)-2-丁酮、1-(4-羟基苯基)-4-(吲哚-3)-2,3-丁二醇、1-(4-羟基苯基-4-(吲哚-3)-3-羟基-2-丁酮、吲哚-3-乙醛、1,4-二(吲哚-3)丁烷、1,4-二(吲哚-3)-1-丁烯、1,4-二(吲哚3)-2丁烯、1,4-二(吲哚-3)-2-丁醇、1,4-二(吲哚-3)-2-丁酮、1,4-二(吲哚-3)-2,3-丁二醇、1,4-二(吲哚-3)-3-羟基-2-丁酮、琥珀酸半醛、己烷-1,8-二羧酸、3-己烯-1,8-二羧酸、3-羟基-己烷-1,8-二羧酸、3-己酮-1,8-二羧酸、3,4-己二醇-1,8-二羧酸、4-羟基-3-己酮-1,8-二羧酸、岩藻多糖或它们的混合物。

[0066] 用于进行发酵步骤的适当微生物对于本领域技术人员是已知的，并包括选自酵母(Saccharomyces)、克鲁维酵母(Kluyveromyces)、假丝酵母(Candida)、毕赤酵母(Pichia)、裂殖酵母(Schizosaccharomyces)、汉逊酵母(Hansenula)、克勒克酵母(Kloeckera)、许旺酵母(Schwanniomyces)、耶氏酵母(Yarrowia)、曲霉(Aspergillus)、木霉(Trichoderma)、腐质霉(Humicola)、枝顶孢(Acremonium)、镰孢(Fusarium)和青霉(Penicillium)菌属的酵母和/或丝状真菌(filamentaous fungus)。也可以使用细菌，包括但不限于梭状芽胞杆菌(Clostridia)、产酸克雷伯菌(Klebsiella oxytoca)菌株和大肠杆菌(E.coli)菌株。

[0067] 发酵步骤优选在最适合发酵微生物的温度和pH进行，它们能够由本领域技术人员确定。发酵步骤通常进行可充分获得所期望的有机分子的所需量和/或收率的时间。在某些实施方式中，发酵步骤进行至少12小时、优选约12小时～约48小时的时间。

[0068] 在一个优选实施方式中，将发酵菌剂添加至水解产物，其中所述菌剂包含干面包酵母、1g/L酵母提取物、0.5g/L磷酸二铵、0.025g/L硫酸镁和1.38g/L磷酸二氢钠。在另一个优选实施方式中，将发酵菌剂添加至水解产物，其中所述菌剂包含浓度为每升水解产物1g～4g的干酵母。发酵步骤的温度可以为约20℃～约75℃，并且pH可以为约pH 3.0～约pH 9.0。溶解的氧含量取决于菌株和发酵的类型，可以为小于10％饱和。补充营养物可以可选地添加，取决于具体微生物的菌株和营养需求，这对本领域技术人员而言应是显而易见的。

[0069] 发酵后，通过本领域技术人员已知的任何适当技术，可以分离和/或纯化所关注的至少一种产物或成分。产物或成分通常是选自由醇、醛、烷烃、烯烃、苯甲酸类化合物、羧酸、酮、多元醇组成的组中的有机分子。发酵的结果可以是富含有机分子的水相和固相。可以将该混合物通入蒸馏单元中，所述蒸馏单元可以工作在大气压或高于或低于大气压的任何其他压力和有利于将目标有机分子与该工艺液流中的其他成分分离的温度，可以由本领域技术人员确定。该蒸馏单元可以具有多个部件，包括醪塔(beer column)、精馏塔和汽提

塔，并可以以获得足够高纯度的目标有机分子的方式设置。可选的是，可以存在干燥步骤，其中可以使用分子筛来从工艺液流中除去水，以提供约 97％～约 99.9％、更优选约 99％～约 99.9％的纯度。如果目标有机分子由于任何原因而不可蒸馏，则可以采用蒸馏的替代方法来纯化目标有机分子。其实例为可以通过利用固相分离和随后的油 - 水相分离。

[0070] 在一个实施方式中，纯化步骤可以包括通过滤布过滤发酵的材料。可以在约 80℃蒸馏滤液，并将所收集的含有纯化产物的馏分用于后续通过分子筛进行的干燥。

[0071] 其中所关注的有机分子为乙醇，本发明的方法将优选产生纯度为至少 99％、优选纯度为 99.9％的乙醇。

[0072] 下游应用

[0073] 由本发明的方法产生的有机分子可以用于任何适当的下游应用。在本发明的优选实施方式中，该方法用于产生如乙醇等有机分子，其可用于生产塑料或生物塑料。本文中所使用的术语“生物塑料”意指包含由生物类材料（包括但不限于源自植物生物质的醇、二醇、烷烃、烯烃、羧酸）得到的聚合物的任何塑料。生物塑料越来越受关注，因为它们代表着由如石油等不可再生天然资源得到的塑料的重要替代物。

[0074] 聚合物或生物塑料可以由包含使用任何本领域技术人员已知的适当技术通过本发明的方法产生的至少一种有机分子的有机前体制造。在一个实施方式中，所生产的塑料为聚对苯二甲酸乙二醇酯 (PET)，并且所述 PET 通过包括以下步骤的方法生产：

[0075] (a) 取用通过本发明的方法产生的乙醇；

[0076] (b) 与氧源在催化剂上反应以产生乙烯；

[0077] (c) 与催化剂液流源反应以产生乙二醇；和

[0078] (d) 与对苯二甲酸一起加热以产生聚对苯二甲酸乙二醇酯。

[0079] 利用本发明的方法由烟草生物质生产的生物塑料可用于制造一系列不同产品。在本发明的优选实施方式中，所生产的生物塑料用于制造含有烟碱的产品或烟碱替代产品。含有烟碱的产品包括烟碱吸入器，如描述于 WO2011/095781 中的仿真吸烟装置。

[0080] 如上所述，随着吸烟的减少，对于如烟碱药筒、烟碱吸入器和仿真吸烟装置等烟碱替代产品的需求趋势增长。但是，这些产品中许多需要大量塑料包装和 / 或在其设计中包括大量塑料。本发明的方法可使含有塑料的烟碱替代疗法和装置所需的烟碱和塑料的有机前体均至少部分地由同一烟草生物质原料得到。

[0081] 鉴于以上内容，本文提供一种烟碱替代产品，所述产品包含烟碱和至少部分地由一种或多种有机前体合成的塑料，其中烟碱和至少有一种有机前体均由同一烟草生物质原料得到。

[0082] 由本要求保护的方法可以获得显著的经济和环境效益。通过从烟草植株中得到有用产物以及烟碱，本发明将减少用于吸烟制品的烟草种植的耕地损失。由于烟草植株、特别是叶子的高价值，当结合至吸烟制品中时，从同一生物质原料中提取烟碱和得到用于生产如塑料等生物类塑料产品的有机前体的方法在过去不被认为是经济上可行的。然而，长期来看，如烟碱替代疗法等革新将潜在地降低烟草植株绝对意义上的和相对于纯烟碱价值的市场价值。利用整个烟草植株提取成分、特别是如烟碱等水溶性成分和产生如醇等有机分子的本方法因此具有重大商业价值。

[0083] 现在通过参照以下非限制性实施例来使本发明得到进一步了解。

[0084] 实施例

[0085] 实施例 1 利用烟草生物质提取烟碱和产生乙醇的方案

[0086] 1.1 材料

[0087] • 碱 :0.5M 氢氧化钠 (Sigma)。

[0088] • 生物质 :普通烟草 (Nicotiana tabacum),其烟草生物质被限定为至少含有以下成分的植物材料 :25%纤维素、25%半纤维素、15%木质素和 0.1%～ 5%烟碱干物质。

[0089] • 0.1M 硫酸 (Sigma)

[0090] • 柠檬酸缓冲液 (Sigma)

[0091] • 石蜡 (Sigma)

[0092] • 面包酵母 (S cerevisiae)

[0093] • 菌剂培养基 (10x)

[0094] ○ 6.7g/L 酵母氮源 (Yeast Nitrogen Base)(Difco)

[0095] ○ 5g/L 右旋糖 (Difco)

[0096] • 酶 :纤维素酶、Cellic Ctec2 和 Htec2(Novozyme)

[0097] • 培养基补充物,计算为使得最终发酵肉汤具有以下浓度。

[0098] ○ 1g/L 酵母提取物 (Difco)

[0099] ○ 0.5g/L 磷酸二铵 (Sigma)。

[0100] ○ 0.025g/L 硫酸镁 (Sigma)。

[0101] ○ 1.38g/L 磷酸二氢钠 (Sigma)。

[0102] • 滤布 / 纱布 (Fisher)

[0103] • 热电偶 (Cole Parmer)

[0104] • 水浴 + 加热板 (Cole Parmer)

[0105] • 1x 压力容器 (Merrow Scientific)

[0106] • 1x 发酵罐 (Cole Parmer)

[0107] • 通用实验室设备 :烧杯、吸管、搅拌器、pH 计、天平

[0108] • 在无菌罩中的无菌天平

[0109] • 溶解氧探头 (Mettler Toledo)

[0110] • 镇流和真空蒸馏设备 (Sigma)

[0111] • 个人防护装备。

[0112] 1.2 生物质收集

[0113] 由去顶成熟烟草植株获得用于加工的烟草生物质。将该生物质用水彻底洗涤,以除去残留的泥土和种植过程中使用的水溶性非系统性试剂。

[0114] 1.3 预处理

[0115] 在预处理之前,将该烟草生物质切成 <10mm 的片,以便更好地接触试剂和提取烟碱。将称重、切碎的生物质预加载至压力容器中。向该压力容器添加氢氧化钠溶液 (0.5M),以获得 12 重量%固体含量的最终稀释。在搅动该混合物的同时,将该压力容器加热至 120℃的运行温度,并保持在此温度 10 分钟。将该反应器的温度冷却至 50℃,以便于对该预处理材料的安全处置。

[0116] 1.4 烟碱分离

[0117] 通过数层滤布过滤该预处理材料，以分离固体。将滤液收集在容器中。将固体残渣用少量水洗涤三次，以将尽可能多的烟碱提取至该容器中。向滤液中添加石蜡并充分混合。以 3000g 离心该混合物 5 分钟，以分离两相。收集疏水相（石蜡相）。

[0118] 将 0.1M 硫酸溶液添加至石蜡相中并充分混合。以 3000g 离心该混合物 5 分钟，以分离两相。收集酸相并用 0.1M 氢氧化钠溶液中和。将该溶液在 125℃、101kPa 蒸馏以除去水。然后将该溶液在 125℃、1.6kPa 真空蒸馏，并从冷凝器中收集纯化的烟碱。产物的纯度可以通过 HPLC 确定。

[0119] 1.5 酶处理和发酵

[0120] 将来自滤液的固体材料在 121℃蒸压 15 分钟。在无菌罩中，对经蒸压的固体材料称重，并将其无菌地转移至发酵反应器中。向发酵反应器添加 50℃水，以获得 10 重量％固体含量的最终稀释。将温度保持在 50℃，同时用 0.1M 硫酸将该混合物调整至 pH5。添加 50℃并且 pH 5 的柠檬酸缓冲液，使其达到 0.1M 的最终浓度。将水解酶以 1:10w/w 酶：固体的比例添加。使反应进行 24 小时，同时在该反应的持续时间内进行搅拌。24 小时后，将反应器冷却至 30℃，并保持该温度以发酵。

[0121] 发酵菌剂通过将干酵母重新悬浮在菌剂培养基中并使其在 30℃生长 4 小时～ 12 小时而制备。然后将反应器接种相当于 1 ～ 4g 干酵母 /L 发酵肉汤的酵母菌剂。向该发酵肉汤添加培养基补充物。发酵进行 12 小时～ 48 小时，同时进行搅拌以实现适当的混合。监测整个发酵过程中的 pH，其应在 pH 4 ～ 5.5 范围内。发酵过程中，检查溶解氧，并且必要时喷射空气以保持缺氧条件（<10％饱和溶解氧 - 饱和点为 0.2mM）。

[0122] 1.6 乙醇纯化

[0123] 使发酵肉汤通过滤布以除去所有固体。将滤液在 101kPa、80℃蒸馏，并再循环直至实现 95％的纯度。通过沸石、分子筛蒸馏，以除去主要馏分中存在的残留水分，从而提供纯度为 99.9％的乙醇。

[0124] 乙醇的纯度可以通过气相色谱法确定。

[0125] 使 99.9％纯的乙醇与 90％的氧于 220℃～ 280℃在银催化剂上反应，并随后使其与过量蒸汽一起通过氧化铝催化剂，以产生乙二醇。然后可以将该乙二醇与对苯二甲酸在加热容器中混合，并加热至 270℃，以产生聚对苯二甲酸乙二醇酯。

[0126] 本发明在范围上不应被本文所述的具体实施方式限制。实际上，由以上描述和附图，本文中所述以外的本发明的各种修改对于本领域技术人员将显而易见。所述修改应落在所附权利要求的范围内。此外，本文所述的本发明的所有方面和实施方式被认为是广泛适用的，并在适当时可与任何和所有其他相一致的实施方式（包括取自本发明其他方面的那些实施方式）结合（包括分开地结合）。

[0127] 本文引用了各种出版物，通过援引将其公开内容以整体并入本文中。

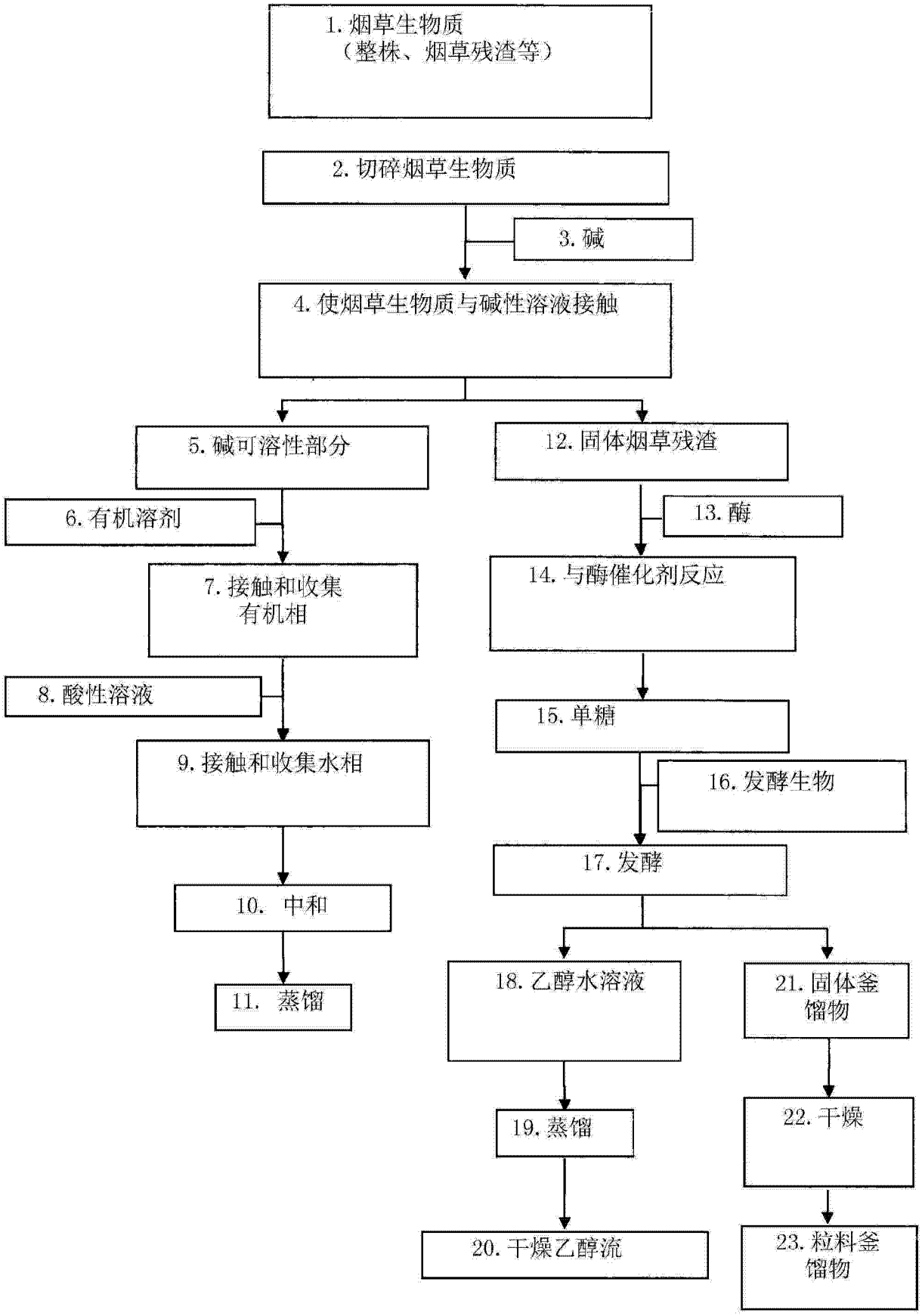

1. 烟草生物质
（整株、烟草残渣等）
2. 切碎烟草生物质
3. 碱
4. 使烟草生物质与碱性溶液接触
5. 碱可溶性部分
6. 有机溶剂
7. 接触和收集
有机相
8. 酸性溶液
9. 接触和收集水相
10. 中和
11. 蒸馏
12. 固体烟草残渣
13. 酶
14. 与酶催化剂反应
15. 单糖
16. 发酵生物
17. 发酵
18. 乙醇水溶液
19. 蒸馏
20. 干燥乙醇流
21. 固体釜
馏物
22. 干燥
23. 粒料釜
馏物

图 1