

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2024年11月7日 (07.11.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/227405 A1

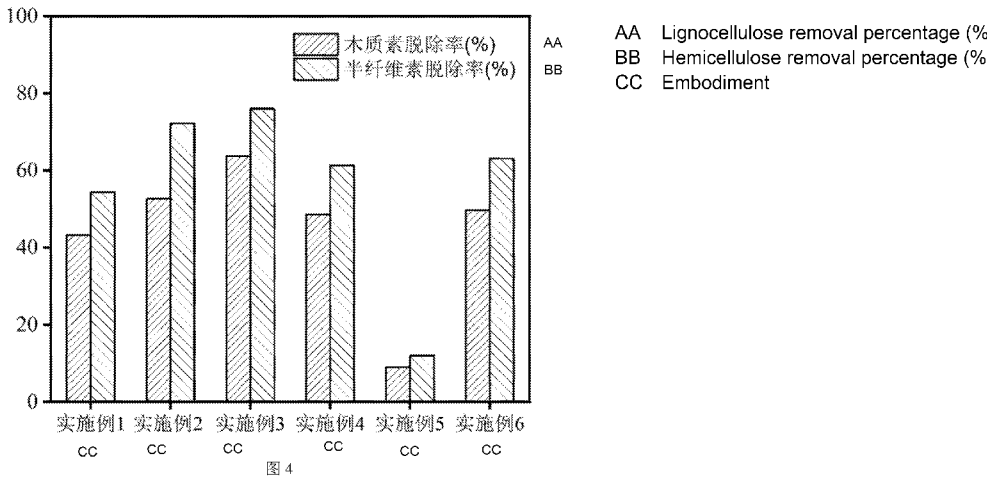
- (51) 国际专利分类号:
C12P 19/14 (2006.01) D21B 1/06 (2006.01)
C12P 19/02 (2006.01) D21C 1/00 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2024/088996
- (22) 国际申请日: 2024年4月21日 (21.04.2024)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
202310486936.9 2023年4月30日 (30.04.2023) CN
- (71) 申请人: 浙江华康药业股份有限公司 (ZHEJIANG HUAKANG PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国浙江省衢州市开化县华埠镇华工路18号, Zhejiang 324302 (CN).
- (72) 发明人: 李勉 (LI, Mian); 美国加利福尼亚州圣塔克雷拉市海登路4354号, CA (US)。杨武龙

(YANG, Wulong); 中国浙江省衢州市开化县华埠镇华工路18号, Zhejiang 324302 (CN)。陈天影 (CHEN, Tianying); 中国浙江省衢州市开化县华埠镇华工路18号, Zhejiang 324302 (CN)。杨铭乾 (YANG, Mingqian); 中国浙江省衢州市开化县华埠镇华工路18号, Zhejiang 324302 (CN)。唐艳军 (TANG, Yanjun); 中国浙江省衢州市开化县华埠镇华工路18号, Zhejiang 324302 (CN)。徐伟冬 (XU, Weidong); 中国浙江省衢州市开化县华埠镇华工路18号, Zhejiang 324302 (CN)。吴强 (WU, Qiang); 中国浙江省衢州市开化县华埠镇华工路18号, Zhejiang 324302 (CN)。秦淑芳 (QIN, Shufang); 中国浙江省衢州市开化县华埠镇华工路18号, Zhejiang 324302 (CN)。

(74) 代理人: 浙江修源律师事务所 (ZHEJIANG XIUYUAN LAW FIRM); 中国浙江省杭州市余杭

(54) Title: METHOD FOR IMPROVING ENZYMATIC HYDROLYSIS EFFICIENCY OF LIGNOCELLULOSE

(54) 发明名称: 一种提高木质纤维素酶水解效率的方法



(57) Abstract: A method for improving the enzymatic hydrolysis efficiency of lignocellulose, comprising the steps: crushing agricultural and forestry biomass raw materials to the granular size of 60-80 meshes, performing extraction by using a toluene-ethanol solution, and drying same at a constant temperature to obtain an extract-removed raw material; separately weighing a metal salt and glycerol according to a molar ratio of 1:10-1:124, mixing same, and stirring the mixture under a temperature condition of 80-90°C at a stirring speed of 180 rpm to obtain a homogeneous and transparent IV-type deep eutectic solvent; weighing the extract-removed raw material, adding same to the IV-type deep eutectic solvent, and reacting same under a temperature condition of 80-120°C at a stirring speed of 300-500 rpm for 2-4 h to obtain a pretreated mixture; performing solid-liquid separation on the pretreated mixture so as to separately obtain filter residues and a filtrate, cleaning the filter residues and then drying the cleaned filter residues to obtain lignocellulose residues obtained after the pretreatment of the agricultural and forestry biomass raw materials; and performing enzymolysis on the lignocellulose residues to obtain fermentable carbohydrates.

区仓前街道良睦路116号鼎创财富中心A2幢10楼1001室, Zhejiang 311000 (CN)。

- (81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(57) 摘要: 一种提高木质纤维素酶水解效率的方法, 包括步骤: 将农林生物质原料破碎至60~80目粒径, 用甲苯-乙醇溶液进行抽提, 恒温烘干得到去抽提物原料; 按摩尔比为1:10~1:124分别称取金属盐和丙三醇进行混合, 混合物在80~90℃的温度条件下, 以180rpm的搅拌速度得到均一透明的IV型低共熔溶剂; 称取去抽提物原料加入到IV型低共熔溶剂中, 在80~120℃的温度条件下, 以300~500rpm的搅拌速度反应2h~4h, 得到预处理混合物; 对预处理混合物进行固液分离, 分别得到滤渣和滤液, 然后将清洗后的滤渣进行烘干, 得到农林生物质原料预处理后的木质纤维素残渣; 对木质纤维素残渣进行酶解得到可发酵性糖。

一种提高木质纤维素酶水解效率的方法

技术领域

本发明属于制备木质纤维素技术领域，特别涉及一种提高木质纤维素酶水解效率的方法。

背景技术

木质纤维素主要是由纤维素、半纤维素和木质素组成，其中纤维素的有效糖化是生产化学品和液体燃料的关键。要实现木质纤维素高效转化，必须从破坏木质纤维素抗降解屏障出发，寻找高效且绿色环保的预处理溶剂体系。

预处理溶剂体系能够有效打破生物质原有的致密性结构，降低抗降解屏障，从而利于碳水化合物向可发酵单糖的转化或燃料乙醇的转化等。而绿色环保、温和、高效预处理溶剂的选择对木质纤维素的酶解糖化具有重要意义。

低共熔溶剂（DES）作为一类新型离子液体，由氢键供体和氢键受体经简单的物理混合而成，可有效去除木质素或半纤维素，且对纤维素降解作用小，还可对溶剂进行回收再利用。

发明内容

本发明所要解决的技术问题在于，提供一种提高木质纤维素酶水解效率的方法，采用一种成本低廉、绿色环保的低共熔溶剂体系对木质纤维素进行酶水解，该方法具有对设备要求低、操作简单、可有效提高酶水解效率等优点。

本发明是这样实现的，提供一种提高木质纤维素酶水解效率的方法，包括如下步骤：

步骤一、将农林生物质原料破碎至 60~80 目粒径，用甲苯-乙醇溶液进行抽提，恒温烘干得到去抽提物原料；

步骤二、按摩尔比为 1:10~1:124 分别称取金属盐和丙三醇进行混合，混合物在 80~90°C 的温度条件下，以 180rpm 的搅拌速度得到均一透明的IV型低共熔溶剂；其中，金属盐为氯化铝、氯化锌、氯化铁中任意一种；

步骤三、称取步骤一制备的去抽提物原料，按固液比 1:5~1:15 加入到步骤二制备的IV型低共熔溶剂中，在 80~120°C 的温度条件下，以 300~500rpm 的搅拌速度反应 2h~4h，得到预处理混合物；

步骤四、采用离心分离或减压抽滤方式对预处理混合物进行固液分离，分别得到滤渣和滤液，将滤渣用乙醇或去离子水清洗脱盐至洗液检测不到金属盐组分，然后将清洗后的滤渣进行烘干，得到农林生物质原料预处理后的木质纤维素残渣；

步骤五、将预处理后的木质纤维素残渣按一定的底物浓度加入到 pH 为 4.8 的醋酸缓冲液中，再加入纤维素复合酶，在 45~50°C、140~150r/min 转速的空气浴摇床中，反应一段时间

后，得到可发酵性糖。

目前，将低共熔溶剂（DES）分为四类，本发明采用金属盐和丙三醇制备的溶剂体系为IV型低共熔溶剂体系。丙三醇是预处理中常用的有机溶剂，单独用于预处理时需要较高温度和较长时间才能达到脱除木质素的效果，在酸性环境中可以改善脱除效果，金属盐提供的路易斯酸性可提高木质素的脱除率，有效降解半纤维素，并对纤维素有润胀而非溶解。本发明的IV型低共熔溶剂体系具有稳定性高、易制备，是更具应用前景的绿色溶剂。

进一步地，在步骤一中，所述农林生物质为竹材。

进一步地，在步骤四中，所述清洗后的滤渣的烘干条件是在80°C下烘干至恒重。

进一步地，在步骤五中，所述木质纤维素残渣的底物浓度为2~10wt%，纤维素复合酶为诺维信 Cellic[®]CTec2，纤维素复合酶的添加量为15~50FPU/g底物，酶水解反应时间为3h~48h。

与现有技术相比，本发明的提高木质纤维素酶水解效率的方法，采用金属盐-丙三醇制备的IV型低共熔溶剂对农林生物质原料中的木质纤维素进行预处理，然后再对预处理后的木质纤维素残渣进行酶水解，具有成本低廉、容易制备，处理条件温和、处理时间短等特点，而且对设备的要求较低，反应易于控制，整个过程绿色清洁。另一方面，经过预处理后的木质纤维素残渣的纤维素疏松度得到提高，脱除了大量半纤维素及木质素，有利于促进纤维素酶与底物的接触，从而提高纤维素酶水解效率。

附图说明

图1为本发明提高木质纤维素酶水解效率的方法的流程示意图；

图2为竹粉经氯化铁-丙三醇合成的IV型低共熔溶剂预处理前(a1、a2、a3)、预处理后(b1、b2、b3)的扫描电镜图；

图3为本发明的各实施例和对比例的酶水解效率（即葡萄糖转化率）对比示意图；

图4为本发明的各实施例的毛竹残渣预处理后的半纤维素脱除率和木质素的脱除率对比示意图。

具体实施方式

为了使本发明所要解决的技术问题、技术方案及有益效果更加清楚明白，以下结合附图及实施例，对本发明进行进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

请参照图1所示，本发明提高木质纤维素酶水解效率的方法的较佳实施例，包括如下步骤：

步骤一、将农林生物质原料破碎至60~80目粒径，用体积比2:1的甲苯-乙醇溶液进行抽

提，80°C恒温烘干得到去抽提物原料。所述农林生物质为毛竹。

步骤二、按摩尔比为 1:10~1:124 分别称取金属盐和丙三醇进行混合，混合物在 80~90°C 的温度条件下，以 180rpm 的搅拌速度得到均一透明的IV型低共熔溶剂。其中，金属盐为氯化铝、氯化锌、氯化铁中任意一种。金属盐与丙三醇的摩尔比优选为 1:124。根据最终的预处理效果，金属盐优选为氯化铁。

步骤三、称取步骤一制备的去抽提物原料，按固液比 1:5~1:15 加入到步骤二制备的IV型低共熔溶剂中，在 80~120°C的温度条件下，以 300~500rpm 的搅拌速度反应 2h~4h，得到预处理混合物。固液比优选为 1:10。

步骤四、采用离心分离或减压抽滤方式对预处理混合物进行固液分离，分别得到滤渣和滤液，将滤渣用乙醇或去离子水清洗脱盐至洗液检测不到金属盐组分，然后将清洗后的滤渣进行烘干，得到农林生物质原料预处理后的木质纤维素残渣；所述清洗后的滤渣的烘干条件是在 80°C下烘干至恒重。

步骤五、将预处理后的木质纤维素残渣按一定的底物浓度加入到 pH 为 4.8 的醋酸缓冲液中，再加入纤维素复合酶，在 45~50°C、140~150r/min 转速的空气浴摇床中，反应一段时间后，得到可发酵性糖。

所述木质纤维素残渣的底物浓度为 2~10wt%，纤维素复合酶为诺维信 Cellic®CTec2，纤维素复合酶的添加量为 15~50FPU/g 底物，酶水解反应时间为 3h~48h。木质纤维素反应残渣的底物浓度优选为 2wt%，底物浓度越大，纤维素酶水解达到平台期所需时间越长。纤维素复合酶为诺维信 Cellic®CTec2，纤维素复合酶添加量不同对酶水解所需时间及效果有所差异，且影响实验及今后生产成本。在实现高酶水解效率的同时降低生产成本，综合考虑优选纤维素酶添加量为 15FPU/g 底物，酶水解反应时间为 3h~48h，可根据木质纤维素预处理残渣、底物浓度、纤维素复合酶使用量、底物酶水解效果的最优化及节约酶水解时间角度进一步优化酶水解反应时间为 48h。

本发明使用金属盐-丙三醇合成IV型低共熔溶剂具有廉价易得、在利用过程中可循环使用、绿色环保等特点。而且，金属盐-丙三醇对半纤维素和木质素有很好的脱除作用，并对纤维素的溶解作用很小，从而实现纤维素的高效转化。

下面通过实施例和对比例进一步说明本发明的提高木质纤维素酶水解效率的方法。

实施例 1

本发明第一种提高木质纤维素酶水解效率的方法的实施例，包括如下步骤：

将毛竹原料粉碎过筛取 60~80 目，经体积比 2:1 比例的甲苯-乙醇抽提后在 80°C下恒温烘

干至恒重，得到去抽提物原料。按 1:10 的比例称取氯化铁和丙三醇，以 180rpm 的速度搅拌至均一透明液体。称取一定量去抽提物原料按照 1:15 固液比加入到氯化铁-丙三醇溶剂中，在 80°C 下，以 300rpm 的速度搅拌并反应 4h。反应结束后，采用真空抽滤法进行固液分离，将分离得到的毛竹滤渣用去离子水清洗脱盐至检测不到金属盐成分，得到氯化铁-丙三醇合成的 IV 型低共熔溶剂预处理后的毛竹残渣。毛竹残渣按 5% 的底物浓度加入到 pH 为 4.8 的醋酸缓冲溶液中，加入 50FPU/g 毛竹残渣底物的纤维素复合酶(Cellic®CTec2)，在 50°C，140r/min 的空气摇床中反应 48h，得到可发酵性糖——葡萄糖。最后测量得到预处理后的毛竹残渣的酶水解效率为 46.63%。

对比例

毛竹原料为对照，将毛竹不经过金属盐-丙三醇合成 IV 型低共熔溶剂的预处理而直接进行酶水解，分析毛竹直接进行酶水解的效率。包括如下步骤：

将毛竹原料破碎至 60~80 目，经甲苯-乙醇抽提后在 80°C 下恒温烘干。将一定量去抽提物毛竹原料按 2% 的底物浓度加入到 pH 为 4.8 的醋酸缓冲液中，加入 15FPU/g 毛竹底物的纤维素复合酶(Cellic®CTec2)，在 50°C，140r/min 的空气浴摇床中反应 48h 后酶水解效率为 17.78%。

实施例 1 的酶水解效率是对比例的酶水解效率的 2.6 倍，说明本发明的低共熔溶剂预处理方法可以显著地提高毛竹酶水解效率。

实施例 2

本发明第二种提高木质纤维素酶水解效率的方法的实施例，包括如下步骤：

将毛竹原料粉碎过筛取 60~80 目，经体积比 2:1 比例的甲苯-乙醇抽提后在 80°C 下恒温烘干至恒重，得到去抽提物原料。按 1:124 的比例称取氯化铁和丙三醇，以 180rpm 的速度搅拌至均一透明液体。称取一定量去抽提物原料按照 1:10 固液比加入到氯化铁-丙三醇溶剂中，在 100°C 下，以 300rpm 的速度搅拌并反应 3h。反应结束后，采用真空抽滤法进行固液分离，将分离得到的毛竹滤渣用去离子水清洗脱盐至检测不到金属盐成分，得到氯化铁-丙三醇合成的 IV 型低共熔溶剂预处理后的毛竹残渣。毛竹残渣按 2% 的底物浓度加入到 pH 为 4.8 的醋酸缓冲溶液中，加入 15FPU/g 毛竹残渣底物的纤维素复合酶(Cellic®CTec2)，在 50°C，140r/min 的空气摇床中反应 48h 得到可发酵性糖——葡萄糖。最后测量得到预处理后的毛竹残渣的酶水解小率为 67.87%，是对比例的未经预处理毛竹酶水解效率的 3.8 倍。

实施例 3

本发明第三种提高木质纤维素酶水解效率的方法的实施例，包括如下步骤：

将毛竹原料粉碎过筛取 60~80 目，经体积比 2:1 比例的甲苯-乙醇抽提后在 80°C 下恒温烘

干至恒重，得到去抽提物原料。按 1:124 的比例称取氯化铁和丙三醇，以 180rpm 的速度搅拌至均一透明液体。称取一定量去抽提物原料按照 1:10 固液比加入到氯化铁-丙三醇溶剂中，在 120°C 下，以 300rpm 的速度搅拌并反应 2h。反应结束后，采用真空抽滤法进行固液分离，将分离得到的毛竹滤渣用去离子水清洗脱盐至检测不到金属盐成分，得到氯化铁-丙三醇合成的 IV 型低共熔溶剂预处理后的毛竹残渣。毛竹残渣按 2% 的底物浓度加入到 pH 为 4.8 的醋酸缓冲溶液中，加入 15FPU/g 毛竹残渣底物的纤维素复合酶(Cellic[®]CTec2)，在 50°C，140r/min 的空气摇床中反应 48h 得到可发酵性糖——葡萄糖。最后测量得到预处理后的毛竹残渣的酶水解效率为 91.13%，是对比例的未经预处理毛竹酶水解效率的 5.1 倍。

实施例 4

本发明第四种提高木质纤维素酶水解效率的方法的实施例，包括如下步骤：

将毛竹原料粉碎过筛取 60~80 目，经体积比 2:1 比例的甲苯-乙醇抽提后在 80°C 下恒温烘干至恒重，得到去抽提物原料。按 1:15 的比例称取氯化铁和丙三醇，以 180rpm 的速度搅拌至均一透明液体。称取一定量去抽提物原料按照 1:5 固液比加入到氯化铁-丙三醇溶剂中，在 100°C 下，以 300rpm 的速度搅拌并反应 3h。反应结束后，采用真空抽滤法进行固液分离，将分离得到的毛竹滤渣用去离子水清洗脱盐至检测不到金属盐成分，得到氯化铁-丙三醇合成的 IV 型低共熔溶剂预处理后的毛竹残渣。毛竹残渣按 10% 的底物浓度加入到 pH 为 4.8 的醋酸缓冲溶液中，加入 50FPU/g 毛竹残渣底物的纤维素复合酶(Cellic[®]CTec2)，在 50°C，140r/min 的空气摇床中反应 48h 得到可发酵性糖——葡萄糖。最后测量得到预处理后的毛竹残渣的酶水解小率为 69.41%，是对比例的未经预处理毛竹酶水解效率的 3.9 倍。

实施例 5

本发明第五种提高木质纤维素酶水解效率的方法的实施例，包括如下步骤：

将毛竹原料粉碎过筛取 60~80 目，经体积比 2:1 比例的甲苯-乙醇抽提后在 80°C 下恒温烘干至恒重，得到去抽提物原料。按 1:124 的比例称取氯化锌和丙三醇，以 180rpm 的速度搅拌至均一透明液体。称取一定量去抽提物原料按照 1:10 固液比加入到氯化锌-丙三醇溶剂中，在 100°C 下，以 300rpm 的速度搅拌并反应 3h。反应结束后，采用真空抽滤法进行固液分离，将分离得到的毛竹滤渣用去离子水清洗脱盐至检测不到金属盐成分，得到氯化锌-丙三醇合成的 IV 型低共熔溶剂预处理后的毛竹残渣。毛竹残渣按 2% 的底物浓度加入到 pH 为 4.8 的醋酸缓冲溶液中，加入 15FPU/g 毛竹残渣底物的纤维素复合酶(Cellic[®]CTec2)，在 50°C，140r/min 的空气摇床中反应 48h 得到可发酵性糖——葡萄糖。最后测量得到预处理后的毛竹残渣的酶水解效率为 24.75%，是对比例的未经预处理毛竹酶水解效率的 1.4 倍。

实施例 6

本发明第六种提高木质纤维素酶水解效率的方法的实施例，包括如下步骤：

将毛竹原料粉碎过筛取 60~80 目，经体积比 2:1 比例的甲苯-乙醇抽提后在 80°C 下恒温烘干至恒重，得到去抽提物原料。按 1:124 的比例称取氯化铝和丙三醇，以 180rpm 的速度搅拌至均一透明液体。称取一定量去抽提物原料按照 1:10 固液比加入到氯化铝-丙三醇溶剂中，在 100°C 下，以 300rpm 的速度搅拌并反应 3h。反应结束后，采用真空抽滤法进行固液分离，将分离得到的毛竹滤渣用去离子水清洗脱盐至检测不到金属盐成分，得到氯化铝-丙三醇合成的 IV 型低共熔溶剂预处理后的毛竹残渣。毛竹残渣按 2% 的底物浓度加入到 pH 为 4.8 的醋酸缓冲溶液中，加入 15FPU/g 毛竹残渣底物的纤维素复合酶(Cellic®CTec2)，在 50°C，140r/min 的空气摇床中反应 48h 得到可发酵性糖——葡萄糖。最后测量得到预处理后的毛竹残渣的酶水解效率为 59.78%，是对比例的未经预处理毛竹酶水解效率的 3.4 倍。

请参照图 2 所示，未预处理的竹粉的竹纤维表面相对光滑、完整，如图 2-a1、图 2-a1、图 2-a1 所示，排列紧密；而经本发明的氯化铁-丙三醇合成的 IV 型低共熔溶剂预处理后的竹粉的竹纤维表面粗糙，沟壑加深，如图 2-b1、图 2-b2、图 2-b3 所示，纤维多处被打断，断裂面破损程度高，大大增加纤维素酶与纤维素的接触面积以及纤维素对纤维素酶的吸附能力，进而提高了纤维素的酶水解效率。

请参照图 3 所示，与对比例相比，经本发明的氯化铁-丙三醇合成的 IV 型低共熔溶剂预处理后，木质纤维生物质的酶水解效果均有所提高，尤其是氯化铁基 DES 和氯化铝基 DES，这与金属盐的性质密切相关，且预处理工艺条件对最终酶水解效率有不同程度的影响。

请参照图 4 所示，预处理工艺条件以及预处理溶剂体系对木质素和半纤维素组分的脱除有不同程度的影响。脱除率可在一定程度上反映木质纤维生物质结构致密性的破坏。因此，木质素脱除和半纤维素脱除后可促进木质纤维生物质的酶水解，提高酶水解效率。

以上所述仅为本发明的较佳实施例而已，并不用以限制本发明，凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

权利要求书

1. 一种提高木质纤维素酶水解效率的方法，其特征在于，包括如下步骤：

步骤一、将农林生物质原料破碎至 60~80 目粒径，用甲苯-乙醇溶液进行抽提，恒温烘干得到去抽提物原料；

步骤二、按摩尔比为 1:10~1:124 分别称取金属盐和丙三醇进行混合，混合物在 80~90°C 的温度条件下，以 180rpm 的搅拌速度得到均一透明的IV型低共熔溶剂；其中，金属盐为氯化铝、氯化锌、氯化铁中任意一种；

步骤三、称取步骤一制备的去抽提物原料，按固液比 1:5~1:15 加入到步骤二制备的IV型低共熔溶剂中，在 80~120°C 的温度条件下，以 300~500rpm 的搅拌速度反应 2h~4h，得到预处理混合物；

步骤四、采用离心分离或减压抽滤方式对预处理混合物进行固液分离，分别得到滤渣和滤液，将滤渣用乙醇或去离子水清洗脱盐至洗液检测不到金属盐组分，然后将清洗后的滤渣进行烘干，得到农林生物质原料预处理后的木质纤维素残渣；

步骤五、将预处理后的木质纤维素残渣按一定的底物浓度加入到 pH 为 4.8 的醋酸缓冲液中，再加入纤维素复合酶，在 45~50°C、140~150r/min 转速的空气浴摇床中，反应一段时间后，得到可发酵性糖。

2. 如权利要求 1 所述的提高木质纤维素酶水解效率的方法，其特征在于，在步骤一中，所述农林生物质为竹材。

3. 如权利要求 1 所述的提高木质纤维素酶水解效率的方法，其特征在于，在步骤四中，所述清洗后的滤渣的烘干条件是在 80°C 下烘干至恒重。

4. 如权利要求 1 所述的提高木质纤维素酶水解效率的方法，其特征在于，在步骤五中，所述木质纤维素残渣的底物浓度为 2~10wt%，纤维素复合酶为诺维信 Cellic®CTec2，纤维素复合酶的添加量为 15~50FPU/g 底物，酶水解反应时间为 3h~48h。

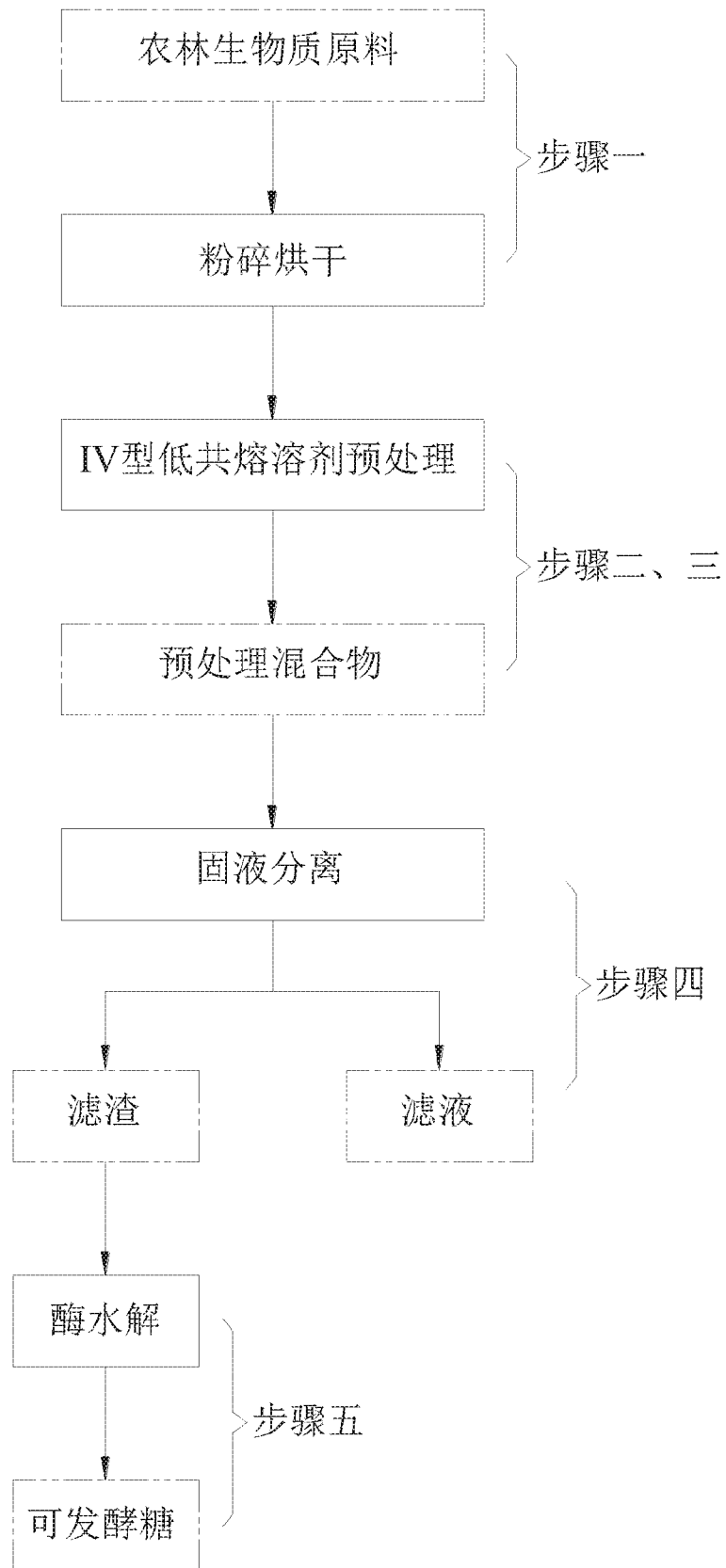


图 1

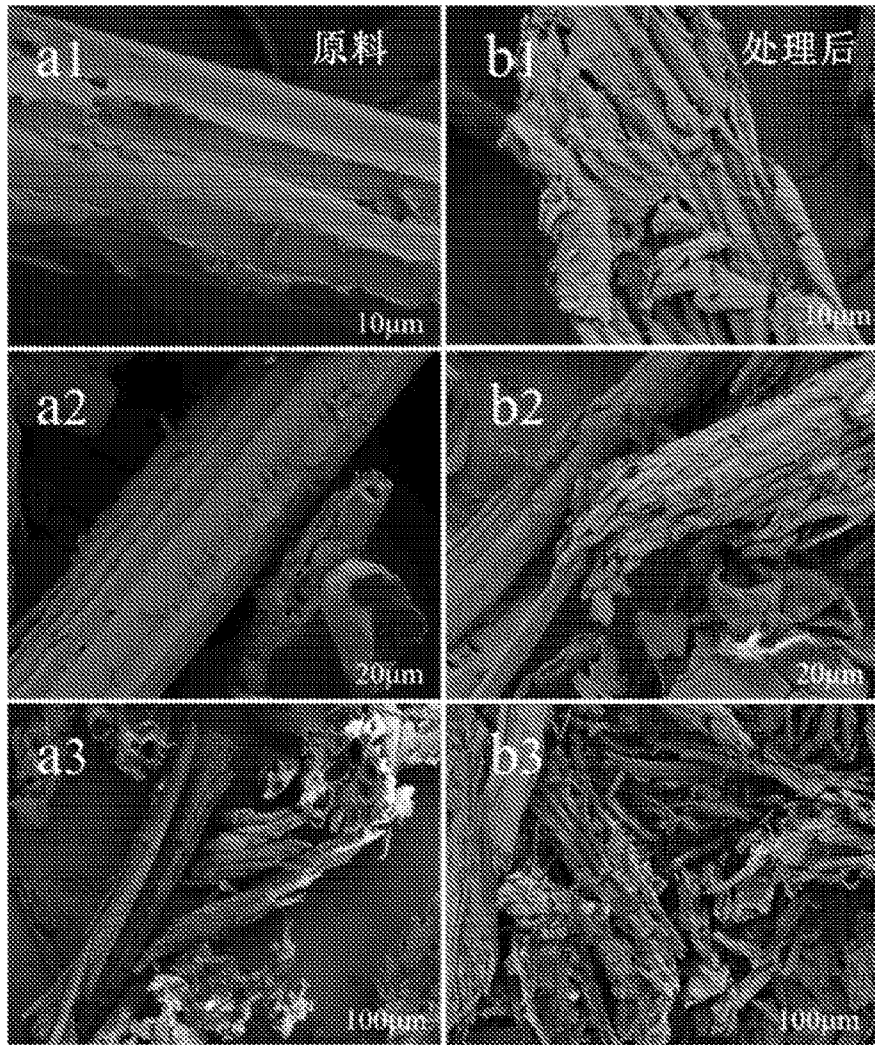


图 2

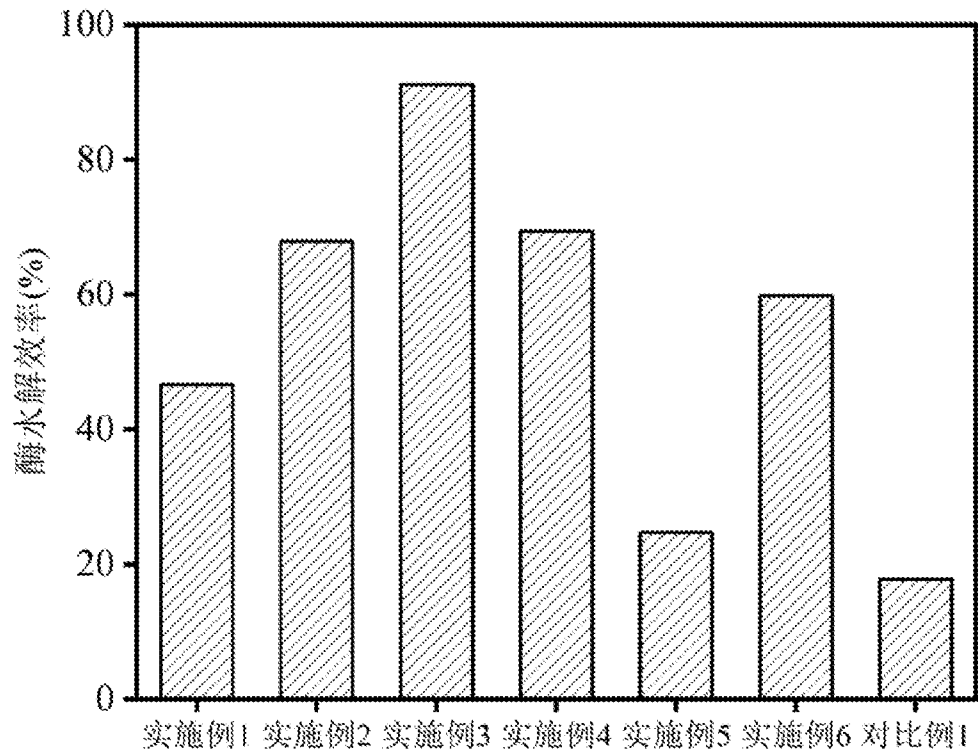


图 3

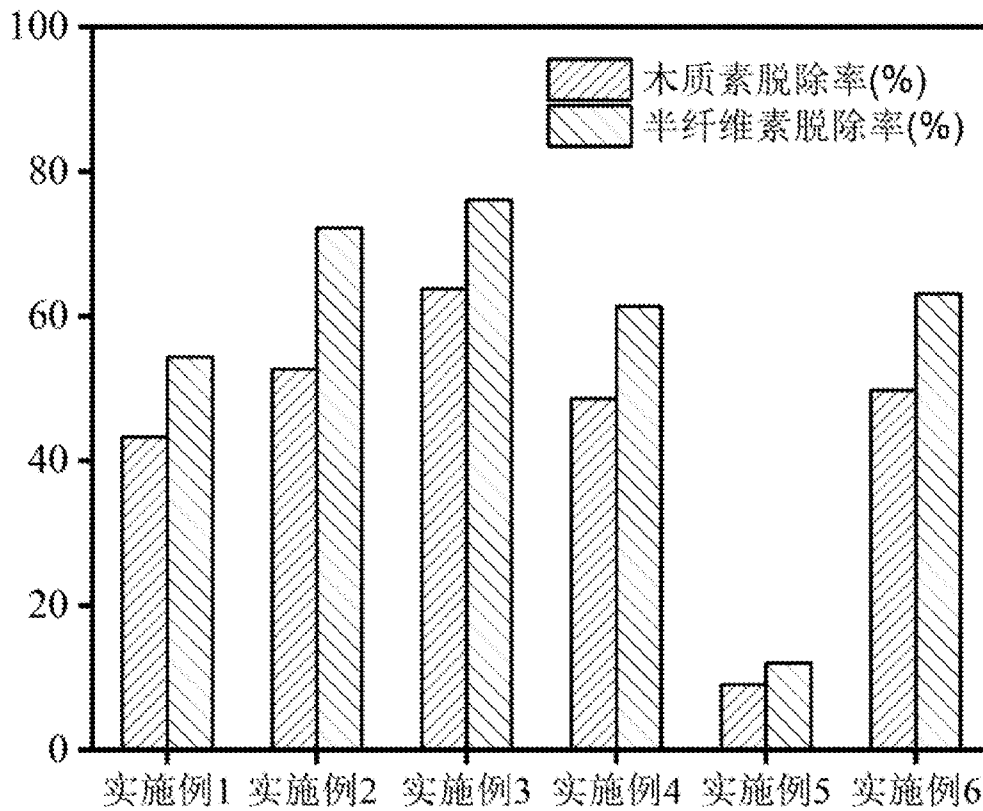


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/088996

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12P 19/14(2006.01)i; C12P 19/02(2006.01)i; D21B 1/06(2006.01)i; D21C 1/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C12P D21B D21C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS; CNTXT; CJFD; CNKI; WPABS; WPABSC; ENTXTC; ENTXT; DWPI; ISI Web of Science: 浙江华康药业, 秸秆, 竹材, 生物质, 纤维素, 木质素, 丙三醇, 甘油, 氯化铝, 氯化铁, 氯化锌, 低共熔溶剂, 深共熔溶剂, 深共晶溶剂, straw, biomass, cellulose, lignin, glycerol, aluminum chloride, ferric chloride, zinc chloride, AlCl₃, FeCl₃, ZnCl₂, deep eutectic solvent, DES**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 116426588 A (ZHEJIANG HUAKANG PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 14 July 2023 (2023-07-14) claims 1-4	1-4
X	US 2021317481 A1 (UNIVERSITY OF CALIFORNIA et al.) 14 October 2021 (2021-10-14) description, embodiment 1	1-4
X	竹源 (ZHU, Yuan). "低共熔溶剂预处理及酶解木质纤维素的研究 (Non-official translation: Study on Deep Eutectic Solvent Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose)" 中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技I辑 (Chinese Master's Theses Full-Text Database, Engineering Science and Technology I), 15 December 2021 (2021-12-15), pages 14-16	1-4
X	Joselaine Carvalho Santana et al. "Optimization of an Organosolv Method Using Glycerol with Iron Catalysts for the Pretreatment of Water Hyacinth" <i>Biomass and Bioenergy</i> , 07 January 2020 (2020-01-07), pages 1-9 in particular abstract, and pages 2 and 3	1-4

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 July 2024

Date of mailing of the international search report

21 July 2024

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,
Beijing 100088

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/088996

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 114085876 A (ZHEJIANG SCI-TECH UNIVERSITY) 25 February 2022 (2022-02-25) claims 1-10	1-4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2024/088996

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 116426588 A	14 July 2023	None	
US 2021317481 A1	14 October 2021	None	
CN 114085876 A	25 February 2022	None	

<p>A. 主题的分类</p> <p>C12P 19/14(2006.01)i; C12P 19/02(2006.01)i; D21B 1/06(2006.01)i; D21C 1/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC: C12P D21B D21C</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS;CNTXT;CJFD;CNKI;WPABS;WPABSC;ENTXTC;ENTXT;DWPI;ISI Web of Science:浙江华康药业, 秸秆, 竹材, 生物质, 纤维素, 木质素, 丙三醇, 甘油, 氯化铝, 氯化铁, 氯化锌, 低共熔溶剂, 深共熔溶剂, 深共晶溶剂, straw, biomass, cellulose, lignin, glycerol, aluminum chloride, ferric chloride, zinc chloride, AlCl₃, FeCl₃, ZnCl₂, deep eutectic solvent, DES</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 116426588 A (浙江华康药业股份有限公司) 2023年7月14日 (2023 - 07 - 14) 权利要求1-4</td> <td>1-4</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>US 2021317481 A1 (UNIV CALIFORNIA 等) 2021年10月14日 (2021 - 10 - 14) 说明书实施例1</td> <td>1-4</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>竹源. "低共熔溶剂预处理及酶解木质纤维素的研究" 中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技 I 辑, 2021年12月15日 (2021 - 12 - 15), 尤其是第14-16页</td> <td>1-4</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>Joselaine Carvalho Santana 等. "Optimization of an organosolv method using glycerol with iron catalysts for the pretreatment of water hyacinth" Biomass and Bioenergy, 2020年1月7日 (2020 - 01 - 07), 第1-9页 尤其是摘要、第2-3页</td> <td>1-4</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 114085876 A (浙江理工大学) 2022年2月25日 (2022 - 02 - 25) 权利要求1-10</td> <td>1-4</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "D" 申请人在国际申请中引证的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 116426588 A (浙江华康药业股份有限公司) 2023年7月14日 (2023 - 07 - 14) 权利要求1-4	1-4	X	US 2021317481 A1 (UNIV CALIFORNIA 等) 2021年10月14日 (2021 - 10 - 14) 说明书实施例1	1-4	X	竹源. "低共熔溶剂预处理及酶解木质纤维素的研究" 中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技 I 辑, 2021年12月15日 (2021 - 12 - 15), 尤其是第14-16页	1-4	X	Joselaine Carvalho Santana 等. "Optimization of an organosolv method using glycerol with iron catalysts for the pretreatment of water hyacinth" Biomass and Bioenergy, 2020年1月7日 (2020 - 01 - 07), 第1-9页 尤其是摘要、第2-3页	1-4	A	CN 114085876 A (浙江理工大学) 2022年2月25日 (2022 - 02 - 25) 权利要求1-10	1-4
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
PX	CN 116426588 A (浙江华康药业股份有限公司) 2023年7月14日 (2023 - 07 - 14) 权利要求1-4	1-4																		
X	US 2021317481 A1 (UNIV CALIFORNIA 等) 2021年10月14日 (2021 - 10 - 14) 说明书实施例1	1-4																		
X	竹源. "低共熔溶剂预处理及酶解木质纤维素的研究" 中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程科技 I 辑, 2021年12月15日 (2021 - 12 - 15), 尤其是第14-16页	1-4																		
X	Joselaine Carvalho Santana 等. "Optimization of an organosolv method using glycerol with iron catalysts for the pretreatment of water hyacinth" Biomass and Bioenergy, 2020年1月7日 (2020 - 01 - 07), 第1-9页 尤其是摘要、第2-3页	1-4																		
A	CN 114085876 A (浙江理工大学) 2022年2月25日 (2022 - 02 - 25) 权利要求1-10	1-4																		
国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期																			
2024年7月13日	2024年7月21日																			
ISA/CN的名称和邮寄地址	授权官员																			
中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	杨叶波																			
	电话号码 (+86) 0512-88996457																			

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2024/088996

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN 116426588 A	2023年7月14日	无	
US 2021317481 A1	2021年10月14日	无	
CN 114085876 A	2022年2月25日	无	