



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108220347 A

(43)申请公布日 2018.06.29

(21)申请号 201810157716.0

C12P 7/16(2006.01)

(22)申请日 2012.12.20

C12P 19/14(2006.01)

(30)优先权数据

C12P 19/02(2006.01)

61/579,576 2011.12.22 US

C12R 1/645(2006.01)

(62)分案原申请数据

C12R 1/72(2006.01)

201280062596.7 2012.12.20

C12R 1/84(2006.01)

C12R 1/78(2006.01)

(71)申请人 希乐克公司

地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 M·梅多夫 T·马斯特曼 J·穆

A·吉田

(74)专利代理机构 上海巛石知识产权代理事务

所(普通合伙) 31309

代理人 张琤

(51)Int.Cl.

C12P 7/18(2006.01)

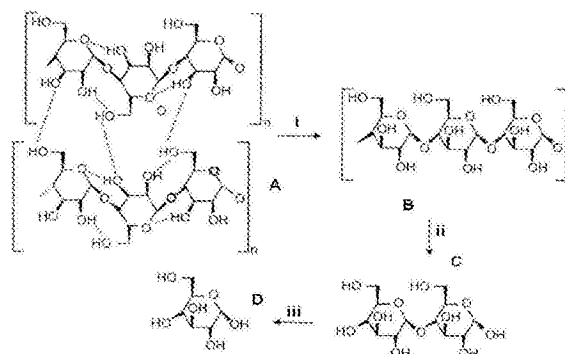
权利要求书2页 说明书28页 附图2页

(54)发明名称

从生物质生产糖和醇

(57)摘要

本文公开的方法包括使纤维素和/或木质纤维素生物质糖化以及使糖发酵以产生糖醇。



1. 一种制备糖醇的方法,所述方法包括:

将含有一种或多种糖的纤维素或木质纤维素生物质与微生物组合,所述生物质的不顺应性已通过电子轰击减小;以及

使用喷射混合,并将所述微生物-生物质组合维持在使所述微生物能将所述糖中的至少一种转化为所述糖醇的条件下,其中所述条件包括溶氧水平高于10%,并且其中所述糖醇为赤藓糖醇。

2. 如权利要求1所述的方法,其进一步包括使所述纤维素或木质纤维素生物质糖化,任选地通过一种或多种纤维素酶。

3. 如以上权利要求中任一项所述的方法,其中所述微生物选自以下组:丛梗孢酵母、*Moniliella megachiliensis*、解脂耶氏酵母、短梗霉属某种、三型孢菌某种、变异三角酵母、毛孢子菌属某种、丛梗孢酵母属、*Typhula variabilis*、木兰假丝酵母、黑粉菌纲、*Pseudozyma tsukubaensis*、接合酵母属的酵母种、德巴利酵母属、汉逊酵母属和毕赤酵母属;以及暗丛梗孢形圆酵母属的真菌。

4. 如权利要求3所述的方法,其中所述微生物为丛梗孢菌的种,任选地为丛梗孢酵母,并且任选地为丛梗孢酵母菌株CBS 461.67。

5. 如权利要求3所述的方法,其中所述微生物为*M. megachiliensis*,任选地为*M. megachiliensis*菌株CBS 567.85。

6. 如以上权利要求中任一项所述的方法,其中所述纤维素或木质纤维素生物质选自由以下组成的组:纸、纸制品、废纸、纸浆、有色纸、装料纸、涂布纸、填充纸、杂志、印刷品、打印纸、多涂层纸、卡片材料、卡纸板、纸板、棉花、木材、刨花板、林业废弃物、锯末、杨木、木屑、草、柳枝稷、芒草、绳草、草芦、谷物残渣、稻壳、燕麦壳、小麦壳、大麦壳、农业废弃物、青贮饲料、油菜秸、小麦秸、大麦秸、燕麦秸、稻秸、黄麻、大麻、亚麻、竹子、剑麻、蕉麻、玉米穗轴、玉米秸秆、大豆秸秆、玉米纤维、苜蓿、干草、椰子毛、糖加工残渣、甘蔗渣、甜菜浆、龙舌兰渣、海藻、海草、粪肥、污水、农业或工业废弃物、秘鲁胡萝卜、荞麦、香蕉、大麦、木薯、葛藤、圆齿酢酱草、西米、高粱、马铃薯、甘薯、芋头、山药、豆类、蚕豆、扁豆、碗豆,以及任何这些的混合物。

7. 如权利要求1所述的方法,其中所述生物质的所述不顺应性还通过选自以下组的处理方法被减小:超声处理、氧化、热解、蒸汽爆炸、化学处理和机械处理。

8. 如以上权利要求中任一项所述的方法,其进一步包括对所述纤维素或木质纤维素生物质进行机械处理以减小其堆积密度和/或增大其表面积,且任选地通过干磨或湿磨粉碎所述生物质。

9. 如以上权利要求中任一项所述的方法,其中对所述纤维素或木质纤维素生物质进行粉碎,任选地通过干磨或湿磨。

10. 如以上权利要求中任一项所述的方法,其进一步包括在将所述纤维素或木质纤维素生物质与所述微生物组合之前分离所述一种或多种糖中的一种或多种。

11. 如以上权利要求中任一项所述的方法,其进一步包括在将所述纤维素或木质纤维素生物质与所述微生物组合之前浓缩所述一种或多种糖。

12. 如权利要求2所述的方法,其中调节糖化的所述生物质以具有至少5wt%的初始葡萄糖浓度。

13. 如以上权利要求中任一项所述的方法,其进一步包括在将所述纤维素或木质纤维素生物质与所述微生物组合之前,对处于细胞生长阶段的所述微生物进行培养。

14. 如权利要求2所述的方法,其进一步包括纯化所述生物质,其中所述纯化任选地包括除去金属离子。

15. 一种减小生物质不顺应性的方法,所述方法包括:

将含有一种或多种糖的纤维素或木质纤维素生物质进行预处理,然后进行机械处理;

其中,所述预处理的方法选自以下组:化学处理、辐射、超声处理、氧化、热解和蒸汽爆炸;以及,

所述机械处理的方法选自以下组:碾磨、研磨、机械撕破、撕裂、剪切和斩切。

16. 一种用粒子轰击处理生物质材料的方法,其中,所述粒子选自以下组:重带电粒子、电子和电磁辐射;以及,所述粒子具有1原子单位至150原子单位。

17. 一种制备糖醇的方法,所述方法包括:

将含有一种或多种糖的纤维素或木质纤维素生物质与微生物组合,所述生物质的不顺应性已被减小;以及将所述微生物-生物质组合维持在使所述微生物能将所述糖中的至少一种转化为所述糖醇的条件下,其中所述糖醇为丁醇。

从生物质生产糖和醇

[0001] 本申请是分案申请,母案的申请号为201280062596.7(国际申请号PCT/US2012/071083),申请日为2012年12月20日,发明名称为“从生物量生产糖和醇”。

[0002] 本申请进一步如下进行描述:

[0003] 相关申请的交叉引用

[0004] 本申请要求在2011年12月22日提交的美国临时申请号61/579,576的权益。以上申请的全部公开内容以引用的方式并入本文。

发明领域

[0005] 本发明涉及产物(例如糖醇,例如像赤藓糖醇)的生产。

[0006] 背景

[0007] 随着对石油的需求增加,对用于制造生物燃料和生物化学物质的可再生原料的兴趣也在增加。自20世纪70年代以来已对木质纤维素生物质作为用于所述制造方法的原料的用途进行了研究。木质纤维素生物质因其丰富、可再生、在国内生产,并且不与食品工业用途竞争而具有吸引力。

[0008] 现今可获得许多潜在的木质纤维素原料,包括例如农业残余物、木质生物质、城市废物、油籽/油饼以及海草。目前这些材料用作动物饲料、生物堆肥材料、在联产设施中燃烧抑或被填埋。

[0009] 木质纤维素生物质由于植物细胞壁具有坚硬并且紧凑的结构而难以降解。所述结构包括嵌入半纤维素基质中由木质素围绕着的晶体纤维素原纤维。这种紧凑基质难以由酶以及其它化学、生物化学和生物方法接近。纤维素生物质材料(例如,已基本除去所有木质素的生物质材料)可以更易于由酶和其它转化方法接近,但是即便如此,天然存在的纤维素材料当与水解酶接触时通常具有低产率(相对于理论产率)。木质纤维素生物质甚至更难以受酶攻击。此外,每种类型的木质纤维素生物质具有其自身特定的纤维素、半纤维素和木质素组成。

[0010] 虽然多种方法已试图从木质纤维素生物质中提取结构性碳水化合物,但其不是过于昂贵、生产产率过低、在所得产物中留有不期望的化学物质,就是仅降解糖类。

[0011] 来自可再生生物质源的糖可以通过代替、补充或取代石油和其它化石原料而成为化学和燃料工业的基础。然而,需要开发将使得可大量并且以可接受的纯度和价格获得这些单糖的技术。

[0012] 发明概述

[0013] 提供了一种用于由含有一种或多种糖的纤维素或木质纤维素生物质制备糖醇的方法,所述方法包括将所述纤维素或木质纤维素生物质与能够将所述糖中的至少一种转化为糖醇的微生物组合,以及将微生物-生物质组合维持在使所述微生物能将所述糖中的至少一种转化为所述糖醇的条件下。在一些实施方式中,所述方法包括:提供纤维素或木质纤维素生物质,其中所述纤维素或木质纤维素生物质含有一种或多种糖;提供能够将所述糖中的至少一种转化为糖醇的微生物;将所述纤维素或木质纤维素生物质与所述微生物组

合,从而产生微生物-生物质组合;以及将所述微生物-生物质组合维持在使所述微生物能将所述糖中的至少一种转化为糖醇的条件下;从而由纤维素或木质纤维素生物质制备糖醇。可以糖化纤维素或木质纤维素生物质。

[0014] 本文提供的任何方法可包括在将纤维素或木质纤维素生物质与微生物组合之前减小其不顺应性以进行糖化。可通过选自以下组成的组的处理方法减小不顺应性:用电子轰击、超声处理、氧化、热解、蒸汽爆炸、化学处理、机械处理以及冷冻研磨。处理方法可为用电子轰击。

[0015] 本文提供的任何方法还可包括对纤维素或木质纤维素生物质进行机械处理,以减小其堆积密度和/或增大其表面积。例如,可以粉碎纤维素或木质纤维素生物质,例如可对其进行干磨或可对其进行湿磨。

[0016] 在本文提供的任何方法中,可用一种或多种纤维素酶糖化生物质。所述方法中的任何方法还可包括在将纤维素或木质纤维素生物质与微生物组合之前分离一种或多种糖,或者所述方法可包括在将纤维素或木质纤维素生物质与微生物组合之前浓缩一种或多种糖。所述方法还可包括在将纤维素或木质纤维素生物质与微生物组合之前浓缩并分离一种或多种糖。可调节糖化的生物质以具有至少5wt%的初始葡萄糖浓度。也可例如通过除去金属离子来纯化糖化的生物质。

[0017] 本文公开的任何方法还可包括在将纤维素或木质纤维素生物质与微生物组合之前,对处于细胞生长阶段的微生物进行培养。

[0018] 在本文提供的任何方法中,糖醇可为乙二醇、甘油、赤藓糖醇、苏糖醇、阿糖醇、木糖醇、核糖醇、甘露醇、山梨醇、半乳糖醇、艾杜醇、肌醇、庚七醇、异麦芽酮糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇、麦芽三糖醇、麦芽四糖醇或聚糖醇。

[0019] 所述微生物可为丛梗孢酵母(*Moniliella pollinis*)、*Moniliella megachiliensis*、解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)、短梗霉属某种(*Aureobasidium* sp.)、三型孢菌某种(*Trichosporonoides* sp.)、变异三角酵母(*Trigonopsis variabilis*)、毛孢子菌属某种(*Trichosporon* sp.)、丛梗孢酵母属(*Moniliella* acetoabutans)、*Typhula variabilis*、木兰假丝酵母(*Candida magnolia*)、黑粉菌纲(*Ustilaginomycetes*)、*Pseudozyma tsukubaensis*;接合酵母属(*Zygosaccharomyces*)的酵母种、德巴利酵母属(*Debaryomyces*)、汉逊酵母属(*Hansenula*)和毕赤酵母属(*Pichia*)、或者暗丛梗孢形圆酵母属(*Torula*)的真菌。微生物可为丛梗孢菌的种,如丛梗孢酵母(例如菌株CBS 461.67)或*M. megachiliensis*(菌株CBS 567.85)。

[0020] 在本文提供的任何方法中,纤维素或木质纤维素生物质可为:纸、纸制品、废纸、纸浆、有色纸、装料纸、涂布纸、填充纸、杂志、印刷品、打印纸、多涂层纸、卡片材料、卡纸板、纸板、棉花、木材、刨花板、林业废弃物、锯末、杨木、木屑、草、柳枝稷、芒草、绳草、草芦、谷物残渣、稻壳、燕麦壳、小麦壳、大麦壳、农业废弃物、青贮饲料、油菜秸、小麦秸、大麦秸、燕麦秸、稻秸、黄麻、大麻、亚麻、竹子、剑麻、蕉麻、玉米穗轴、玉米秸秆、大豆秸秆、玉米纤维、苜蓿、干草、椰子毛、糖加工残渣、甘蔗渣、甜菜浆、龙舌兰渣、海藻、海草、粪肥、污物、下水、秘鲁胡萝卜、荞麦、香蕉、大麦、木薯、葛藤、圆齿酢酱草(*oca*)、西米、高粱、马铃薯、甘薯、芋头、山药、豆类、蚕豆、扁豆、碗豆,或任何这些的混合物。

[0021] 应理解,本发明不限于此概述中所公开的实施方案,并且其旨在涵盖在如由权利

要求书所定义的本发明的精神和范围内的修改。

[0022] 附图简述

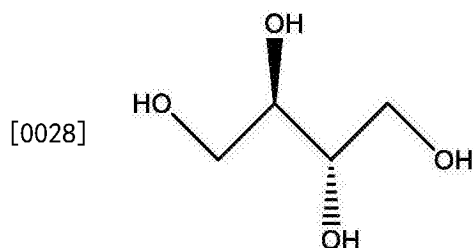
[0023] 上文将由如附图中所示的本发明的以下示例性实施方案的更具体的描述而显而易见,在附图中,相似参考标号指所有不同视图中的相同部分。附图不必按比例绘制,而是将重点放在示出本发明的实施方案上。

[0024] 图1为示出纤维素酶促水解成葡萄糖的图表。纤维素底物(A)由内切纤维素酶(i)转化为纤维素(B),所述纤维素(B)由外切纤维素酶(ii)转化为纤维二糖(C),所述纤维二糖(C)由纤维二糖酶(β -葡萄糖苷酶)(iii)转化为葡萄糖(D)。

[0025] 图2为示出生物质原料转化为一种或多种产物的流程图。对原料进行物理预处理(例如,减小其尺寸)(200)、进行任选处理以减小其不顺应性(210)、进行糖化以形成糖溶液(220),将溶液运送(230)到制造工厂(例如,通过管道、轨道车)(或者如果在途中进行糖化,则运送原料、酶和水),对糖化的原料进行生物加工以产生所希望的产物(例如,醇)(240),并且可以例如通过蒸馏对产物进行进一步加工以产生最终产物(250)。用于不顺应性的处理可通过测量木质素含量(201)并设定或调节工艺参数(205)来改进。使原料糖化(220)可通过将原料与介质和酶混合(221)来改进。

[0026] 详述

[0027] 本发明涉及加工生物质原料材料(例如,生物质材料或生物质衍生的材料,如纤维素或木质纤维素材料)以获得糖醇(如赤藓糖醇((2R,3S)-丁烷-1,2,3,4-四醇)或其同分异构体或混合物)的方法。



[0029] 在一些情况下,在糖化之前减小原料的不顺应性。在一些情况下,减小原料的不顺应性包括处理原料。处理可为例如辐射(例如电子束辐射)、超声处理、热解、氧化、蒸汽爆炸、化学处理或任何这些的组合。

[0030] 在一些实施方式中,所述方法还包括在减小其不顺应性之前和/或之后对原料进行机械处理。机械处理包括例如切割、碾磨(例如,锤磨)、冲压、研磨、剪切以及斩切。机械处理可减小原料的堆积密度和/或增大原料的表面积。在一些实施方案中,在机械处理之后,材料具有小于 $0.75\text{g}/\text{cm}^3$,例如小于约 0.7 、 0.65 、 0.60 、 0.50 、 0.35 、 0.25 、 0.20 、 0.15 、 0.10 、 0.05 或更小,例如小于 $0.025\text{g}/\text{cm}^3$ 的堆积密度。使用ASTM D1895B确定堆积密度。在一些情况下,机械处理可除去或减小不顺应性。

[0031] 一方面,本发明的特征在于一种方法,所述方法包括将通过使纤维素或木质纤维素原料糖化产生的糖与微生物接触以产生产物如糖醇,例如赤藓糖醇。其它产物包括例如柠檬酸、赖氨酸以及谷氨酸。

[0032] 在一些实施方式中,微生物包括丛梗孢酵母、解脂耶氏酵母、短梗霉属某种、三型孢菌某种、变异三角酵母、毛孢子菌属某种、丛梗孢酵母属、*Typhula variabilis*、木兰假丝酵母、黑粉菌纲、*Pseudozyma tsukubaensis*;接合酵母属的酵母种、德巴利酵母属、汉逊酵

母属和毕赤酵母属;以及暗丛梗孢形圆酵母属的真菌。

[0033] 在一些实施方式中,接触步骤包括双阶段方法,其包括细胞生长步骤和发酵步骤。任选地,在发酵开始时,使用具有至少5wt.%的初始葡萄糖浓度的葡萄糖溶液进行发酵。此外,可在已开始发酵之后稀释葡萄糖溶液。

[0034] 如图1所示,例如,在糖化期间,纤维素底物(A)由内切葡聚糖酶(i)在随机位置初始水解,以产生低聚中间体(例如,纤维素)(B)。这些中间体随后为外切葡聚糖酶(ii)(如纤维二糖水解酶)的底物,以从纤维素聚合物的末端产生纤维二糖。纤维二糖是水溶性的1,4-连接的葡萄糖二聚体。最后纤维二糖酶(iii)裂解纤维二糖(C)以得到葡萄糖(D)。因此,内切葡聚糖酶特别有效于攻击纤维素的晶体部分以及增加外切纤维素酶的效力以产生纤维二糖,这随后需要纤维二糖的特异性来产生葡萄糖。因此,明显的是,取决于纤维素底物的性质和结构,可能需要改变三种不同酶的量 and 类型。

[0035] 在一些实施方式中,酶由真菌,例如由纤维素分解丝状真菌里氏木霉的菌株产生。例如,可以使用高产率纤维素酶的里氏木霉突变体,例如,RUT-NG14、PC3-7、QM9414和/或Rut-C30。所述菌株描述于例如“Selective Screening Methods for the Isolation of High Yielding Cellulase Mutants of *Trichoderma reesei*,”Montenecourt,B.S.和Everleigh,D.E.,*Adv.Chem.Ser.*181,289-301(1979),所述文献的全部公开内容以引用的方式并入本文。也可以使用其它产生纤维素酶的微生物。

[0036] 如图2所示,用于制造糖醇的方法可以包括例如任选机械处理原料例如以减小其尺寸(200),在此处理之前和/或之后,任选用另一种物理处理处理原料以进一步减小其不顺应性(210),随后使用酶复合物糖化原料以形成糖溶液(220)。任选地,所述方法还可包括例如通过管道、轨道车、卡车或驳船将溶液(或如果在途中进行糖化的话,则为原料、酶和水)运输到制造工厂(230)。在一些情况下,可对糖化的原料进行进一步生物加工(例如,发酵)以产生所希望的产物,例如醇(240)。在一些实施方式中,此所得产物可例如通过蒸馏(250)进行进一步加工以产生最终产物。减小原料不顺应性的一种方法为通过原料的电子轰击。如果需要,可在所述方法的各个阶段进行测量原料的木质素含量(201)以及基于此测量设定或调节工艺参数(205)的步骤,如在2010年8月12日公布的Medoff和Masterman的美国专利申请公布2010/0203495 A1中所描述,所述公布的完整公开内容以引用的方式并入本文。使原料糖化(220)也可通过将原料与介质和酶混合(221)来改进。

[0037] 在一些情况下,在糖化之前在热水中对原料进行煮沸、浸泡或蒸煮,如2011年10月18日提交的美国序列号13/276,192中所描述。

[0038] 上述方法可在制造工厂的罐(例如,具有至少4000、40,000或500,000L的体积的罐)中部分或完全地进行,和/或可在转运中,例如在轨道车、油罐卡车上或在超级油轮或船仓中部分或完全地进行。可以利用移动发酵罐,如2010年3月18日公布的美国专利申请公布2010/0064746 A1中所描述,所述公布的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0039] 通常优选的是,在全部或部分方法期间,例如使用喷射混合对罐和/或发酵罐内含物进行混合,如于2010年5月18日提交并且于2012年11月25日公布的美国专利申请公布2010/0297705A1、于2011年11月10日提交并且于2012年4月26日公布的美国专利申请公布2012/0100572A1、于2011年11月10日提交并且于2012年4月19日公布的美国专利申请公布2012/0091035A1中所描述,所述公布的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0040] 添加剂(例如像表面活性剂或营养物)的添加可提高糖化速率。表面活性剂的实例包括非离子型表面活性剂(如Tween 20或Tween 80聚乙二醇表面活性剂)、离子型表面活性剂或者两性表面活性剂。

[0041] 可产生一种或多种有用的产物。例如,通过发酵可产生乙二醇、甘油、赤藓糖醇、苏糖醇、阿糖醇、木糖醇、核糖醇、甘露醇、山梨醇、半乳糖醇、艾杜醇、肌醇、庚七醇、异麦芽酮糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇、麦芽三糖醇、麦芽四糖醇以及聚糖醇。此外,还可产生丁酸、葡糖酸以及柠檬酸。

[0042] 在一些实施方案中,通过发酵可制备多元醇,包括单体多元醇,如丙三醇、季戊四醇、乙二醇以及蔗糖。这些可构建成聚合多元醇,如聚醚多元醇。

[0043] 在一些实施方案中,任选机械和/或物理处理的原料可与用于糖化的酶复合物组合并且还与将至少一部分释放的糖发酵成糖醇的有机体组合。随后将糖醇与其它产物和未发酵材料(如固体、不可发酵的糖和细胞碎片)分开。

[0044] 还可将任选机械和/或物理处理的原料与用于糖化的酶复合物组合并且在糖化至少部分完成之后,将混合物与产生糖醇的有机体组合。用于糖化的条件(例如,温度、搅拌、通气)可与用于发酵的条件不同。用于发酵的最佳pH通常为约pH 4至pH 6。典型的发酵时间为约24小时至120小时,其中温度范围为25℃至40℃,例如25℃至30℃。通常在使用喷射管和空气和/或氧气源进行通气以维持高于约10%(例如,高于约20%)的溶氧水平的情况下进行发酵。可在相同或不同的反应器/容器中进行糖化和发酵。随后分离糖醇。如以上所讨论的,可在运输过程中进行发酵。

[0045] 通常,在开始发酵时,高的初始糖浓度有利于糖醇的产生。因此,可在与产生糖醇的有机体组合之前浓缩糖化的原料溶液以增大溶液的葡萄糖水平。可通过任何需要的技术进行浓缩。例如,可通过加热、冷却、离心、反渗透、色谱法、沉淀、结晶、蒸发、吸附以及其组合进行浓缩。优选地,通过从糖化的原料中蒸发至少一部分液体进行浓缩。优选进行浓缩以使葡萄糖含量增加至大于约5wt%,例如大于10wt.%、大于15wt.%、大于20wt.%、大于30wt.%、大于40wt.%或甚至大于50wt.%。随后分离来自发酵的产物。

[0046] 还可在浓缩之前或之后对糖化的原料进行纯化。优选进行纯化以使葡萄糖含量增加至大于除水之外的所有组分的约50wt.(例如,大于约60wt.%、大于约70wt.%、大于约80wt.%、大于约90wt.%以及甚至大于约99wt.%)。可通过任何需要的技术,例如通过加热、冷却、离心、反渗透、色谱法、沉淀、结晶、蒸发、吸附或任何这些的组合进行纯化。

[0047] 在一些实施方式中,发酵是双阶段的,即细胞生长阶段和产物产生阶段。在生长阶段,选择条件以优化细胞生长,而在产生阶段,选择条件以优化所希望的发酵产物的产生。通常,生长培养基中低的糖水平(例如,在0.1wt.%与10wt.%之间、在0.2wt.%与5wt.%之间)有利于细胞生长,并且发酵培养基中高的糖水平(例如,大于5wt.%、大于约10wt.%、大于20wt.%、大于30wt.%、大于40wt.%)有利于产物产生。在每个阶段可任选修改其它条件,例如温度、搅拌、糖水平、营养物和/或pH。可对每个阶段的条件进行监测以优化所述方法。例如,可对生长进行监测以实现最佳密度,例如约50g/L(例如,大于60g/L、大于70g/L或大于约75g/L)并且可添加浓缩的糖化溶液以触发产物形成的开始。任选地,可以例如通过用探针监测和调节pH或充氧水平,并自动进料以控制细胞生长和产物形成来优化所述方法。此外,可控制并监测其它营养物以优化所述方法(例如,氨基酸、维生素、金属离子、酵母

提取物、蔬菜提取物、蛋白胨、碳源以及蛋白质)。

[0048] 在Biotechnological production of erythritol and its applications, Hee-Jung Moon等, Appl. Microbiol. Biotechnol. (2010) 86:1017-1025中描述了双阶段发酵。虽然通常高初始葡萄糖浓度在发酵开始时有利于赤藓糖醇生产,但如果此高浓度维持过长时间,则其可能对有机体有害。可在如上所讨论的糖化期间或之后通过浓缩葡萄糖来实现高初始葡萄糖浓度。在允许发酵开始的初始发酵时间之后,用合适的稀释剂稀释发酵培养基,以使得葡萄糖水平低于约60wt. % (例如,低于约50wt. %、低于约40wt. %)。稀释剂可为水或具有另外组分(如氨基酸、维生素、金属离子、酵母提取物、蔬菜提取物、蛋白胨、碳源以及蛋白质)的水。

[0049] 生物质材料

[0050] 如本文使用的术语“生物质材料”包括木质纤维素、纤维素、淀粉以及微生物材料。

[0051] 木质纤维素材料包括但不限于木材、刨花板、林业废弃物(例如,锯末、杨木、木屑)、草(例如,柳枝稷、芒草、绳草、草芦)、谷物残渣(例如,稻壳、燕麦壳、小麦壳、大麦壳)、农业废弃物(例如,青贮饲料、油菜秸、小麦秸、大麦秸、燕麦秸、稻秸、黄麻、大麻、亚麻、竹子、剑麻、蕉麻、玉米穗轴、玉米秸秆、大豆秸秆、玉米纤维、苜蓿、干草、椰子毛)、糖加工残渣(例如,甘蔗渣、甜菜浆、龙舌兰渣)、海藻、海草、粪肥、污物,以及任何这些的混合物。

[0052] 在一些情况下,木质纤维素材料包括玉米穗轴。磨碎或锤磨粉碎的玉米穗轴可以相对均匀厚度的层进行铺展以用于照射,并且在照射之后易于分散在介质中以进行进一步加工。为了促进收获和收集,在一些情况下,使用整个玉米植株,包括玉米秸秆、玉米粒,并且在一些情况下甚至包括所述植株的根系统。

[0053] 有利地,在玉米穗轴或含有显著大量玉米穗轴的纤维素或木质纤维素材料的发酵期间不需要另外的营养物(除了氮源,例如尿素或氨之外)。

[0054] 玉米穗轴在粉碎之前和之后也更易于输送和分散,并且与如干草和草的其它纤维素或木质纤维素材料相比,具有较小的在空气中形成爆炸混合物的倾向。

[0055] 纤维素材料包括例如纸、纸制品、废纸、纸浆、有色纸、装料纸、涂布纸、填充纸、杂志、印刷品(例如,书、目录、手册、标签、日历、贺卡、小册子、内容说明书、新闻用纸)、打印纸、多涂层纸、卡片材料、卡纸板、纸板、具有高-纤维素含量的材料(如棉花),以及任何这些的混合物。例如,如美国申请号13/396,365(在2012年2月14日提交的Medoff等的“Magazine Feedstocks”)中所述的纸制品,所述申请的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0056] 纤维素材料还可包括已脱木质化的木质纤维素材料。

[0057] 淀粉材料包括淀粉本身(例如玉米淀粉、小麦淀粉、马铃薯淀粉或米淀粉)、淀粉衍生物或者包括淀粉的材料(如可食用的食物产品或农作物)。例如,淀粉材料可以是秘鲁胡萝卜、荞麦、香蕉、大麦、木薯、葛藤、圆齿酢酱草、西米、高粱、普通家用马铃薯、甜薯、芋头、山药,或一种或多种豆类,如蚕豆、扁豆或豌豆。任何两种或更多种淀粉材料的共混物也是淀粉材料。还可使用淀粉、纤维素和或木质纤维素材料的混合物。例如,生物质可以是整个植株、植株的一部分或植株的不同部分,例如,小麦植株、棉花植株、玉米植株、水稻植株或树。可通过本文所述的任何方法处理淀粉材料。

[0058] 微生物材料包括但不限于含有或能够提供碳水化合物(例如,纤维素)源的任何天然存在或基因修饰的微生物或有机体,例如原生生物,例如动物原生生物(例如,原生动物,

如鞭毛虫、变形虫、纤毛虫和孢子虫)和植物原生生物(例如,海藻,如alveolates、chlorarachniophytes、隐藻、裸藻、灰藻、定鞭藻、红藻、不等鞭毛藻、以及绿色植界(viridaplantae))。其它实例包括海草、浮游生物(例如,大型浮游生物、中型浮游生物、小型浮游生物、微型浮游生物、超微型浮游生物以及超微微型浮游生物)、浮游植物、细菌(例如,革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌以及极端微生物)、酵母和/或这些的混合物。在一些情况下,微生物生物质可从天然来源获得,例如海洋、湖泊、水体(例如,咸水或淡水)或在陆地上。或者或另外,微生物生物质可从培养系统获得,例如大规模干燥与湿润培养和发酵系统。

[0059] 生物质材料还可包括下水和类似来源的材料。

[0060] 在其它实施方案中,如纤维素、淀粉和木质纤维素原料材料的生物质材料可从已相对于野生型品种修饰的转基因微生物和植物获得。所述修饰可例如通过选择和育种的迭代步骤来在植物中获得所希望的性状。此外,所述植物相对于野生型品种可已被去除、修饰、沉默和/或添加遗传材料。例如,遗传修饰的植物可通过重组DNA方法产生,其中遗传修饰包括引入或修饰来自亲本品种的特定基因;或者例如通过使用转基因育种来产生,其中将一个或多个特定基因从不同品种的植物和/或细菌中引入到植物中。形成遗传变异的另一种方式是通过突变育种,其中新的等位基因由内源基因人工形成。人工基因可通过多种方式形成,所述方式包括用例如化学诱变剂(例如,使用烷化剂、环氧化物、生物碱、过氧化物、甲醛)、照射(例如,X-射线、 γ 射线、中子、 β 粒子、 α 粒子、质子、氘核、UV辐射)以及温度冲击或其它外部应力处理植株或种子,以及随后的选择技术。提供修饰的基因的其它方法是通过易错PCR和DNA改组,随后将所希望的修饰的DNA插入到所希望的植株或种子中。在种子或植株中引入所希望的遗传变异的方法包括例如细菌载体的使用、基因枪、磷酸钙沉淀法、电穿孔、基因剪接、基因沉默、脂转染、微量注射以及病毒载体。另外的遗传修饰的材料已在2012年2月14日提交的美国申请序列号13/396,369中描述,所述申请的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0061] 可使用本文所述的任何生物质材料的混合物实践本文所述的任何方法。

[0062] 生物质材料制备-机械处理

[0063] 生物质可处于干燥形式,例如具有小于约35%含湿量(例如,小于约20%、小于约15%、小于约10%、小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2%或甚至小于约1%)。生物质还可在湿润状态下例如作为湿固体、具有至少约10wt%固体的浆液或悬浮液(例如,至少约20wt.%、至少约30wt.%、至少约40wt.%、至少约50wt.%、至少约60wt.%、至少约70wt.%)递送。

[0064] 本文公开的方法可利用低堆积密度材料,例如已物理预处理成具有小于约0.75g/cm³,例如小于约0.7、0.65、0.60、0.50、0.35、0.25、0.20、0.15、0.10、0.05或更小,例如小于约0.025g/cm³的堆积密度的纤维素或木质纤维素原料。使用ASTM D1895B确定堆积密度。简单地说,所述方法涉及用样品填充具有已知体积的量筒以及获得样品的重量。堆积密度通过用样品重量(克)除以已知的量筒体积(立方厘米)来计算。如果需要,可通过Medoff的美国专利号7,971,809中所述的方法对低堆积密度材料进行致密化,所述专利的全部公开内容以引用的方式由此并入。

[0065] 在一些情况下,预处理加工包括生物质材料的筛选。可通过具有所希望的开口尺

寸的网或多孔板进行筛选,所述开口尺寸例如小于约6.35mm(1/4英寸,0.25英寸)(例如,小于约3.18mm(1/8英寸,0.125英寸)、小于约1.59mm(1/16英寸,0.0625英寸)、小于约0.79mm(1/32英寸,0.03125英寸)、例如小于约0.51mm(1/50英寸,0.02000英寸)、小于约0.40mm(1/64英寸,0.015625英寸)、小于约0.23mm(0.009英寸)、小于约0.20mm(1/128英寸,0.0078125英寸)、小于约0.18mm(0.007英寸)、小于约0.13mm(0.005英寸),或甚至小于约0.10mm(1/256英寸,0.00390625英寸))。在一种配置中,所希望的生物质通过穿孔或筛网掉落,并且因此不照射大于穿孔或筛网的生物质。这些较大材料可以例如通过粉碎来重新加工或者可简单地将其从加工中去除。在另一种配置中,照射大于穿孔的材料并且通过筛选方法去除较小材料或将其再循环。在这种配置中,输送器本身(例如,输送器的一部分)可为有穿孔的或者用网制成。例如,在一个具体实施方案中,生物质材料可以是湿的并且穿孔或网允许在照射之前将水从生物质中排出。

[0066] 材料的筛选还可通过手动方法,例如通过去除不想要的材料的操作员或机械体(例如,配备有颜色、反射率或其它传感器的机器人)进行。筛选还可通过磁筛选进行,其中将磁铁设置在输送的材料附近并且通过磁力去除磁性材料。

[0067] 任选预处理加工可包括加热材料。例如,输送器的一部分可传送通过加热区域。加热区域可例如通过IR辐射、微波、燃烧(例如,气体、煤、油、生物质)、电阻性加热和/或感应线圈来形成。可从至少一个侧面或一个以上侧面施加热量,热量可以是连续的或间断的,并且可仅用于部分材料或者用于所有材料。例如,可通过使用加热套来加热输送溜槽的一部分。可以例如出于干燥材料的目的进行加热。在干燥材料的情况下,在加热或不加热的情况下,这还可通过在正在输送生物质时,气体(例如,空气、氧气、氮气、He、CO₂、氩气)在生物质上和/或通过所述生物质的移动来促进。

[0068] 任选地,预处理加工可包括冷却所述材料。冷却材料在Medoff的美国专利号7,900,857中描述,所述专利的公开内容以引用的方式并入本文。例如,可通过将冷却流体,例如水(例如,具有甘油)或氮(例如,液氮)供应至输送溜槽的底部来进行冷却。或者,可将冷却气体,例如冷冻氮气吹送到生物质材料上或输送系统下。

[0069] 另一种任选的预处理加工方法可包括向生物质添加一种材料。所述另外的材料可以(例如)通过在输送所述生物质时将材料喷淋、喷洒和或倾倒至生物质上来添加。可添加的材料包括例如金属、陶瓷和/或离子,如美国专利申请公布2010/0105119 A1(2009年10月26日提交)和美国专利申请公布2010/0159569 A1(2009年12月16日提交)中所描述,所述公布的全部公开内容以引用的方式并入本文。可添加的任选材料包括酸和碱。可添加的其它材料为氧化剂(例如,过氧化物、氯酸盐)、聚合物、可聚合单体(例如,含有不饱和键)、水、催化剂、酶和/或有机体。可例如以纯的形式、作为在溶剂(例如,水或有机溶剂)中的溶液和/或作为溶液添加材料。在一些情况下,溶剂是挥发性的并且可例如通过加热和/或吹送如先前所述的气体使其蒸发。添加的材料可在生物质上形成均匀涂层或者为不同组分(例如,生物质和另外的材料)的均匀混合物。添加的材料可通过增加照射效率、阻尼照射或改变照射效果(例如,从电子束至X-射线或加热)来调节随后的照射步骤。所述方法可不影响照射,但可对进一步的下游加工有用。添加的材料可例如通过降低粉尘水平来帮助输送材料。

[0070] 生物质可通过皮带输送机、气动输送机、螺旋输送机、料斗、管、手动或者通过这些的组合递送至输送机。可通过任何这些方法将生物质例如滴加、倾倒和/或放置在输送机

上。在一些实施方案中,使用封闭的材料分配系统将材料递送至输送机,以帮助维持低氧气氛和/或控制粉尘和细粉。漂浮的或空气悬浮的生物物质细粉和粉尘是不希望的,因为这些可形成爆炸隐患或损害电子枪的窗口箔(如果所述装置用于处理材料)。

[0071] 可使材料均衡以形成在约0.0312英寸与5英寸之间的统一厚度(例如,在约0.0625英寸与2.000英寸之间、在约0.125英寸与1英寸之间、在约0.125英寸与0.5英寸之间、在约0.3英寸与0.9英寸之间、在约0.2英寸与0.5英寸之间、在约0.25英寸与1.0英寸之间、在约0.25英寸与0.5英寸之间、0.100+/-0.025英寸、0.150+/-0.025英寸、0.200+/-0.025英寸、0.250+/-0.025英寸、0.300+/-0.025英寸、0.350+/-0.025英寸、0.400+/-0.025英寸、0.450+/-0.025英寸、0.500+/-0.025英寸、0.550+/-0.025英寸、0.600+/-0.025英寸、0.700+/-0.025英寸、0.750+/-0.025英寸、0.800+/-0.025英寸、0.850+/-0.025英寸、0.900+/-0.025英寸、0.900+/-0.025英寸)。

[0072] 一般来说,优选尽可能快地将材料输送通过电子枪以使流通量最大化。例如,可以至少1ft/min的速率,例如至少2ft/min、至少3ft/min、至少4ft/min、至少5ft/min、至少10ft/min、至少15ft/min、20、25、30、35、40、45、50ft/min的速率输送材料。输送速率与射束电流相关,例如对于1/4英寸厚的生物物质和100mA,输送机可以约20ft/min移动以提供有用的照射剂量,在50mA下,输送机可以约10ft/min移动以提供近似相同的照射剂量。

[0073] 生物物质材料在输送通过辐射区域之后,可进行任选后处理加工。任选后处理加工可以是例如相对于预照射加工所描述的方法。例如,生物物质可进行筛选、加热、冷却和/或与添加剂组合。对于后照射独特的是可发生自由基的淬灭,例如通过添加流体或气体(例如,氧气、一氧化二氮、氨、液体)、使用压力、加热和/或添加自由基清除剂进行自由基的淬灭。例如,可将生物物质输送出封闭的输送机并将其暴露于气体(例如,氧气),其在所述气体中淬灭,从而形成羧基化基团。在一个实施方案中,在照射反应性气体或流体期间暴露生物物质。已照射的生物物质的淬灭在Medoff的美国专利号8,083,906中描述,所述专利的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0074] 如果需要,可使用除照射之外的一种或多种机械处理以进一步减小生物物质材料的不顺应性。可在照射之前、期间和或之后应用这些方法。

[0075] 在一些情况下,机械处理可包括如通过粉碎(例如切割、研磨、剪切、磨粉或斩切)来初始制备所接收的原料,如材料的尺寸缩减。例如,在一些情况下,通过剪切或切剁来制备疏松原料(例如,再循环的纸、淀粉材料或柳枝稷)。机械处理可减小生物物质材料的堆积密度、增加生物物质材料的表面积和/或降低生物物质材料的一个或多个尺寸。

[0076] 或者或另外,原料材料可首先通过一种或多种其它物理处理方法(例如化学处理、辐射、超声处理、氧化、热解或蒸汽爆炸)进行物理处理,并随后进行机械处理。这个顺序可以是有利的,因为通过一种或多种其它处理(例如照射或热解)进行处理的材料倾向于更脆,并且因此可更易于通过机械处理进一步改变材料的结构。例如,可如本文所述使用输送机将原料材料输送通过电离辐射并且随后进行机械处理。化学处理可除去一些或全部木质素(例如,化学制浆)并且可使材料部分或完全水解。所述方法还可用于预先水解的材料。所述方法还可用于未预先水解的材料。所述方法可用于水解材料和未水解材料的混合物,例如具有约50%或更多的未水解材料、具有约60%或更多的未水解材料、具有约70%或更多的未水解材料、具有约80%或更多的未水解材料或甚至具有90%或更多的未水解材料的混

合物。

[0077] 除了尺寸缩减(可在加工期间初期和/或后期进行)之外,机械处理还可有利地“打开”、“压紧”、破坏或破碎生物质材料,从而使材料的纤维素在物理处理期间更易于断链和/或晶体结构破裂。

[0078] 机械处理生物质材料的方法包括例如碾磨或研磨。可使用例如磨粉机、球磨机、胶体磨、圆锥或锥形磨、盘磨机、轮碾机、威利磨(Wiley mill)、谷物碾磨机或其它磨进行碾磨。可使用例如切割/冲击型研磨机进行研磨。一些示例性研磨机包括石料研磨机、销棒研磨机、咖啡研磨机以及磨盘式研磨机。研磨或碾磨可以例如通过使销棒或其它元件往复移动来提供,在销棒碾磨机中就是这样。其它机械处理方法包括机械撕破、撕裂、剪切或斩切、对纤维施加压力的其它方法以及空气摩擦碾磨。合适的机械处理进一步包括继续进行由先前的加工步骤引发的材料内部结构破裂的任何其它技术。

[0079] 机械进料制备系统可被配置成产生具有特定特征(例如像特定最大尺寸、特定长宽比或特定表面积比)的进料流。物理制备可提高反应速率、改善材料在输送机上的移动、改善材料的照射曲线、提高材料的辐射均匀度、或者减少打开材料并使其对于方法和/或试剂(如溶液中的试剂)更易接近所需要的加工时间。

[0080] 可以控制(例如,增大)原料的堆积密度。在一些情况下,可希望例如通过使材料致密化(例如,致密化可使将其运输到另一个位置更容易并且成本更低)以及随后使材料恢复到较低堆积密度状态(例如,在运输之后)来制备低堆积密度材料。可使材料致密化,例如从小于约0.2g/cc至大于约0.9g/cc(例如,小于约0.3g/cc至大于约0.5g/cc、小于约0.3g/cc至大于约0.9g/cc、小于约0.5g/cc至大于约0.9g/cc、小于约0.3g/cc至大于约0.8g/cc、小于约0.2g/cc至大于约0.5g/cc)。例如,可通过在Medoff的美国专利号7,932,065和国际公布号WO 2008/073186(2007年10月26日提交,以英语公布并且指定美国)中公开的方法和设备来使材料致密化,所述专利的全部公开内容以引用的方式并入本文。可通过本文所述的任何方法加工致密化的材料,或者由本文所述的任何方法加工的任何材料可随后致密化。

[0081] 在一些实施方案中,待加工的材料呈纤维材料的形式,所述纤维材料包括通过剪切纤维来源提供的纤维。例如,可用旋转切割机进行剪切。

[0082] 例如,可以例如在旋转切割机中剪切例如具有不顺应性的或其不顺应性水平已减小的纤维来源,以提供第一纤维材料。使第一纤维材料通过例如具有1.59mm或更小(1/16英寸,0.0625英寸)的平均开口尺寸的第一筛网,提供第二纤维材料。如果需要,可在剪切之前例如用切碎机切割纤维来源。例如,当使用纸作为纤维来源时,可首先用切碎机,例如反相旋转螺旋切碎机(如由Munson(Utica,N.Y.)制造的那些)将纸切割成例如1/4-英寸至1/2-英寸宽的条。作为切碎的替代,可通过使用闸刀式切纸机切割至所希望的尺寸来减小纸的尺寸。例如,闸刀式切纸机可用于将纸切割成例如10英寸宽×12英寸长的片。

[0083] 在一些实施方案中,纤维来源的剪切和使所得的第一纤维材料通过第一筛网是同时进行的。也可以在间歇型过程中进行剪切和通过。

[0084] 例如,旋转切割机可用于同时剪切纤维来源和筛选第一纤维材料。旋转切割机包括可装载有通过切碎纤维来源制备的切碎的纤维来源的料斗。切碎的纤维来源。

[0085] 在一些实施方式中,在糖化和/或发酵之前对原料进行物理处理。物理处理方法可包括一种或多种本文所述的任何那些方法,如机械处理、化学处理、照射、超声处理、氧化、

热解或蒸汽爆炸。处理方法可与两种、三种、四种或甚至所有这些技术组合使用(以任何顺序)。当使用一种以上的处理方法时,所述方法可同时或不同时应用。改变生物质原料的分子结构的其它方法也可单独使用或与本文公开的方法组合使用。

[0086] 可使用的机械处理以及机械处理的生物质材料的特征在2011年10月18日提交的美国专利申请公布2012/0100577 A1中进一步详细描述,所述公布的全部公开内容以引用的方式由此并入本文。

[0087] 生物质材料的处理—粒子轰击

[0088] 用高能粒子轰击进行的一种或多种处理可用于加工来自广泛多种不同来源的原料,以从原料中提取有用物质,并且提供充当进一步的加工步骤和/或顺序的输入物的部分降解的有机材料。粒子轰击可减小原料的分子量和/或结晶度。在一些实施方案中,使用在从其原子轨道释放电子的材料中沉积的能量处理材料。可通过重带电粒子(如 α 粒子或质子)、电子(例如,在 β 衰变或电子束加速器中产生的)或电磁辐射(例如, γ 射线、x射线或紫外线)提供轰击。可选地,可使用通过放射性物质产生的辐射来处理原料。可以任何顺序或同时利用这些处理的任何组合。在另一种方法中,可使用电磁辐射(例如,使用电子束发射器产生的)来处理原料。

[0089] 每种形式的能量经由特定的相互作用使生物质电离。重带电粒子主要经由库仑散射使物质电离;此外,这些相互作用产生可进一步使物质电离的高能电子。 α 粒子与氦原子核相同并且由各种放射性核的 α 衰变产生,所述放射性核如铀、钍、镭、氡、钋、镭、一些锕系(如铀、钍、镭、镤、镭、镭、以及钍)的同位素。

[0090] 当利用粒子时,其可以是中性(不带电)、带正电或带负电的。当带电时,带电粒子可携带单个正电荷或负电荷,或多个电荷,例如一个、两个、三个或甚至四个或更多个电荷。在其中希望断链的情况下,带正电的粒子部分由于其酸性特性而可为所希望的。当利用粒子时,粒子可具有静止电子的质量,或者更大,例如静止电子质量的500、1000、1500或2000或更多倍。例如,粒子可具有约1原子单位至约150原子单位,例如,约1原子单位至约50原子单位或约1原子单位至约25原子单位,例如1、2、3、4、5、10、12或15原子单位的质量。用于加速粒子的加速器可为静电DC、电动力学DC、RF线性波、磁感应线性波或连续波。例如,回旋型加速器可从IBA(离子束加速器,Louvain-la-Neuve,Belgium)购得,如Rhodotron™系统,而DC型加速器可从RDI(现在的IBA Industrial)购得,如Dynamitron™。在以下中讨论了离子和离子加速器:Introductory Nuclear Physics,Kenneth S.Krane,John Wiley&Sons, Inc.(1988),Krsto Prelec,FIZIKA B 6(1997)4,177-206;Chu,William T.,“Overview of Light-Ion Beam Therapy”,Columbus-Ohio,ICRU-IAEA Meeting,18-20 2006年3月;Iwata,Y.等,“Alternating-Phase-Focused IH-DTL for Heavy-Ion Medical Accelerators”,Proceedings of EPAC 2006,Edinburgh,Scotland;以及Leitner,C.M.等,“Status of the Superconducting ECR Ion Source Venus”,Proceedings of EPAC 2000,维也纳,奥地利。

[0091] 剂量取决于所希望的效果和具体原料来应用。例如,高剂量可使原料组分内的化学键断开,而低剂量可增加原料组分内的化学键合(例如,交联)。

[0092] 在一些情况下,当希望断链和/或希望聚合物链官能化时,可利用比电子重的粒子,如质子、氦核、氦离子、硅离子、氟离子、碳离子、磷离子、氧离子或氮离子。当需要开环断

链时,带正电粒子由于其路易斯酸特性而可用于增强开环断链。例如,当需要含氧官能团时,可在氧存在下进行处理或甚至用氧离子进行处理。例如,当需要含氮官能团时,可在氮存在下进行处理或甚至用氮离子进行处理。

[0093] 其它形式的能量

[0094] 电子经由库仑散射和由电子速度的改变产生的轫制辐射相互作用。电子可由经历 β 衰变的放射性核(如碘、铯、钨和铀的同位素)产生。可选地,电子枪可经由热电子发射而用作电子源。

[0095] 电磁辐射经由三个过程相互作用:光电吸收、康普顿散射、以及对产生。通过入射辐射的能量和材料的原子序数确定主要相互作用。促成纤维材料中的所吸收辐射的相互作用的总和可由质量吸收系数表示。

[0096] 电磁辐射根据波长细分为 γ 射线、x射线、紫外线、红外线、微波或无线电波。

[0097] 例如,可采用 γ 辐射处理材料。 γ 辐射具有进入样品的各种材料中的显著穿透深度的优点。 γ 射线源包括放射性核,如钴、钙、钨、铬、镓、铟、碘、铁、氩、钐、铀、铯以及铀的同位素。

[0098] x射线源包括电子束与金属靶(如钨或钼或合金)的碰撞或紧凑光源,如由Lyncean商业化生产的那些。

[0099] 紫外辐射源包括氙灯或镉灯。

[0100] 红外辐射源包括蓝宝石、锌、或硒化物窗口陶瓷灯。

[0101] 微波源包括速调管、Slevin型RF源、或采用氢气、氧气或氮气的原子束源。

[0102] 在本文公开的方法中可使用多种其它装置,包括场致电离源、静电离子分离器、场致电离发生器、热电子发射源、微波放电离子源、再循环或静电加速器、动态线性加速器、范德格拉夫加速器(van de Graaff accelerator)以及折叠式串列加速器。所述装置公开于例如美国专利号7,931,784B2中,所述专利的完整公开内容以引用的方式并入本文。

[0103] 生物质材料的处理--电子轰击

[0104] 可用电子轰击处理原料以改变其结构并且从而减小其不顺应性。所述处理可例如减小原料的平均分子量、改变原料的晶体结构,和/或增加原料的表面积和/或孔隙率。

[0105] 通常优选经由电子束的电子轰击,因为其提供非常高的流通量并且因为相对低电压/高功率电子束装置的使用消除了对昂贵的混凝土穹顶屏蔽物的需要,因为所述装置是“自屏蔽的”并且提供安全有效的方法。虽然“自屏蔽的”装置确实包括屏蔽物(例如,金属板屏蔽物),但是其不需要构建混凝土穹顶,这大大减少了资本支出并且常常允许使用现有制造设施而无需昂贵的修改。电子束加速器可从例如IBA(Ion Beam Applications,Louvain-la-Neuve,Belgium)、Titan Corporation(San Diego,California,USA)以及NHV Corporation(Nippon High Voltage,Japan)购得。

[0106] 可使用电子束装置进行电子轰击,所述电子束装置具有小于10MeV、例如小于7MeV、小于5MeV、或小于2MeV、例如约0.5MeV至1.5MeV、约0.8MeV至1.8MeV、约0.7MeV至1MeV或约1MeV至3MeV的标称能量。在一些实施方式中,标称能量为约500keV至800keV。

[0107] 电子束可具有相对高的总束功率(所有加速头的组合束功率,或者如果使用多个加速器,则为所有加速器和所有头的组合束功率),例如,至少25kW,例如至少30、40、50、60、65、70、80、100、125或150kW。在一些情况下,功率甚至高达500kW、750kW或甚至1000kW或更

大。在一些情况下,电子束具有1200kW或更大的束功率。

[0108] 这种高的总束功率通常通过利用多个加速头来实现。例如,电子束装置可包括两个、四个或更多个加速头。各自具有相对低的束功率的多个头的使用防止材料中的温度过度上升,从而防止材料燃烧并且还增加贯穿材料层厚度的剂量均匀性。

[0109] 在一些实施方式中,希望在电子轰击期间冷却材料。例如,可在例如通过螺杆挤出机或其它输送设备输送材料时冷却所述材料。

[0110] 为了减少不顺应性减小过程中所需要的能量,希望尽可能快地处理材料。一般来说,优选以大于约0.25毫拉德 (Mrad) /秒,例如大于约0.5、0.75、1、1.5、2、5、7、10、12、15或甚至大于约20毫拉德/秒,例如约0.25至2毫拉德/秒的剂量速率进行处理。更高剂量速率通常需要更高线速度,以避免材料的热分解。在一个实施方式中,对于约20mm的样品厚度(例如,具有0.5g/cm³的堆积密度的粉碎的玉米穗轴材料),将加速器设定为3MeV、50mA束电流并且线速度为24英尺/分钟。

[0111] 在一些实施方案中,进行电子轰击直到材料接收至少0.5毫拉德,例如至少5、10、20、30或至少40毫拉德的总剂量。在一些实施方案中,进行处理直到材料接收约0.5毫拉德至约150毫拉德、约1毫拉德至约100毫拉德、约2毫拉德至约75毫拉德、10毫拉德至约50毫拉德,例如约5毫拉德至约50毫拉德、约20毫拉德至约40毫拉德、约10毫拉德至约35毫拉德、或约25毫拉德至约30毫拉德的剂量。在一些实施方式中,优选25毫拉德至35毫拉德的总剂量,其(例如)以5毫拉德/道次 (Mrad/pass) 在几秒内理想地施加,其中每道次应用约一秒。在一些情况下施加大于7至8毫拉德/道次的剂量可引起原料材料的热降解。

[0112] 使用如上所讨论的多个头,可以在多道次,例如由几秒钟的冷却间隔开的10至20毫拉德/道次(例如12至18毫拉德/道次)下的两道次,或者7至12毫拉德/道次(例如9至11毫拉德/道次)的三道次处理材料。如以上所讨论,用若干相对低的剂量而不是一个高剂量处理材料倾向于防止材料过热并且还增加贯穿材料厚度的剂量均匀性。在一些实施方式中,在每道次期间或之后搅拌或以其它方式混合材料,并且随后在下一个道次之前再次将其平滑成均匀层,以进一步增强处理均匀性。

[0113] 在一些实施方案中,将电子加速至例如大于光速的75%,例如大于光速的85%、90%、95%或99%的速度。

[0114] 在一些实施方案中,本文所述的任何加工发生在获得时就保持干燥或者已例如使用加热和/或减压进行干燥的木质纤维素材料上。例如,在一些实施方案中,在25℃和50%相对湿度下测量,纤维素和/或木质纤维素材料具有小于约5重量%的残留水。

[0115] 可在纤维素和/或木质纤维素材料暴露于空气、富氧空气或甚至氧气本身或者由如氮气、氩气或氦气的惰性气体覆盖时施加电子轰击。当希望最大化氧化时,利用氧化环境(如空气或氧气),并且优化与束源的距离以使反应性气体(例如臭氧和/或氮的氧化物)形成最大化。

[0116] 在一些实施方案中,使用两个或更多个电子源,如两个或更多个电离源。例如,可以任何顺序用电子束、随后用 γ 辐射和具有约100nm至约280nm波长的UV光处理样品。在一些实施方案中,用三种电离辐射源(如电子束、 γ 辐射和高能UV光)处理样品。将生物质输送通过处理区域,其中用电子轰击所述生物质。通常优选的是,生物质材料床在处理时具有如先前所述的相对均匀的厚度。

[0117] 重复处理以更彻底地减小生物质的不顺应性和/或进一步改性生物质可为有利的。具体地说,可根据材料的不顺应性,在第一(例如,第二、第三、第四或更多)道次之后调节工艺参数。在一些实施方案中,可使用包括循环系统的输送器,其中将生物质多次输送通过以上所述的各个过程。在一些其它实施方案中,使用多个处理装置(例如,电子束发生器)将生物质处理多次(例如,2次、3次、4次或更多次)。在其它实施方案中,单个电子束发生器可为可用于处理生物质的多个束(例如,2、3、4或更多个束)的来源。

[0118] 改变分子/超分子结构和/或减小生物质的不顺应性的效力取决于所使用的电子能和所施加的剂量,而暴露时间取决于功率和剂量。

[0119] 在一些实施方案中,(用任何电子源或源的组合)进行处理直到材料接收至少约0.05毫拉德,例如至少约0.1、0.25、0.5、0.75、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、125、150、175或200毫拉德的剂量。在一些实施方案中,进行处理直到材料接收0.1-100毫拉德、1-200、5-200、10-200、5-150、5-100、5-50、5-40、10-50、10-75、15-50、20-35毫拉德之间的剂量。

[0120] 在一些实施方案中,以5.0千拉德/小时与1500.0千拉德/小时之间,例如10.0千拉德/小时与750.0千拉德/小时之间或50.0千拉德/小时与350.0千拉德/小时之间的剂量速率进行处理。在其它实施方案中,以10千拉德/小时与10000千拉德/小时之间、100千拉德/小时与1000千拉德/小时之间,或500千拉德/小时与1000千拉德/小时之间的剂量速率进行处理。

[0121] 电子源

[0122] 电子经由库仑散射和由电子速度的改变产生的轫制辐射相互作用。电子可由经历 β 衰变的放射性核(如碘、铯、钨和铀的同位素)产生。可选地,电子枪可经由热电子发射而用作电子源并且通过加速电势进行加速。电子枪产生电子,通过大的电势(例如,大于约50万、大于约100万、大于约200万、大于约500万、大于约600万、大于约700万、大于约800万、大于约900万或甚至大于1000万伏特)使所述电子加速,并且然后在x-y平面上对其进行磁力扫描,其中最初使电子在z方向上向管下方加速并通过箔窗口提取。对电子束进行扫描适用于在照射输送通过扫描束的材料(例如生物质)时增加照射表面。对电子束进行扫描还将热负荷均匀地分布在窗口上并且帮助减少由于电子束的局部加热造成的箔窗口破裂。箔窗口破裂由于随后的必要修复以及重启电子枪而造成大量停机时间。

[0123] 在本文公开的方法中可使用多种其它照射装置,包括场致电离源、静电离子分离器、场致电离发生器、热电子发射源、微波放电离子源、再循环或静电加速器、动态线性加速器、范德格拉夫加速器以及折叠式串列加速器。所述装置公开于例如Medoff的美国专利号7,931,784中,所述专利的完整公开内容以引用的方式并入本文。

[0124] 电子束可用作辐射源。电子束具有高剂量速率(例如,1、5或甚至10毫拉德/秒)、高通量、更少的约束(containment)以及更少的限制(confinement)设备的优点。电子束还可具有高电效率(例如,80%),以允许相对于其它辐射方法的较低能量使用,这可转化为与所使用能量的较小量相对应的较低操作成本和较低温室气体排放。电子束可例如由静电发生器、级联发生器、互感发生器、具有扫描系统的低能加速器、具有线性阴极的低能加速器、线性加速器以及脉冲加速器产生。

[0125] 电子还可(例如)通过断链机制更有效地引起生物质材料的分子结构的改变。此

外,具有0.5-10MeV能量的电子可穿透低密度材料,如本文所述的生物质材料,例如具有小于0.5g/cm³的堆积密度和0.3-10cm的深度的材料。作为电离辐射源电子可适用于(例如)相对薄的材料堆、材料层或材料床,例如小于约0.5英寸,例如小于约0.4英寸、0.3英寸、0.25英寸或小于约0.1英寸。在一些实施方案中,电子束的每个电子的能量为约0.3MeV至约2.0MeV(兆电子伏特),例如约0.5MeV至约1.5MeV或约0.7MeV至约1.25MeV。在2011年10月18日提交的美国专利申请公布2012/0100577A1中讨论了照射材料的方法,所述公布的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0126] 电子束照射装置可从Ion Beam Applications(Louvain-la-Neuve,比利时)、Titan Corporation(San Diego,加州,USA)以及NHV Corporation(Nippon High Voltage,日本)商业上获得。典型的电子能可为0.5MeV、1MeV、2MeV、4.5MeV、7.5MeV或10MeV。典型的电子束照射装置功率可为1KW、5KW、10KW、20KW、50KW、60KW、70KW、80KW、90KW、100KW、125KW、150KW、175KW、200KW、250KW、300KW、350KW、400KW、450KW、500KW、600KW、700KW、800KW、900KW或甚至1000KW。

[0127] 考察电子束照射装置功率规格的权衡因素包括操作成本、投资成本、折旧以及装置占地面积。考察电子束照射的暴露剂量水平的权衡因素是能量成本与环境、安全以及健康(ESH)问题。通常,发生器容纳于例如铅或混凝土的穹顶中,特别是对于从在所述过程中产生的X-射线来产生。考察电子束的权衡因素包括能量成本。

[0128] 电子束照射装置可产生固定束抑或扫描束。具有大的扫描扫掠长度和高扫描速度的扫描束可能是有利的,因为这将有效代替大的、固定的束宽。此外,可得到0.5m、1m、2m或更大的可用扫描宽度。由于扫描宽度较大并且窗口的局部加热和故障的可能性减小,所以扫描束在本文所述的大多数实施方案中是优选的。

[0129] 生物质材料的处理-超声处理、热解、氧化、蒸汽爆炸

[0130] 如果需要,除其它处理之外或代替其它处理,可使用一种或多种超声处理、热解、氧化或蒸汽爆炸方法,以进一步减小生物质材料的不顺应性。这些方法可在另外一种或多种处理之前、期间和或之后应用。这些方法在Medoff的美国专利号7,932,065中详细描述,所述专利的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0131] 处理的生物质材料的用途

[0132] 使用本文公开的方法,可使用起始生物质材料(例如,植物生物质、动物生物质、纸以及城市废物生物质)作为原料来生产有用的中间体和产品,如有机酸、有机酸的盐、酸酐、有机酸的酯以及燃料,例如用于内燃机的燃料或用于燃料电池的原料。本文描述了可使用纤维素和/或木质纤维素材料作为原料的系统和方法,所述纤维素和/或木质纤维素材料容易获得但可能常常难以加工,例如城市废物流和废纸流,如包括报纸、牛皮纸、瓦楞纸或这些的混合物的流。

[0133] 为了将原料转化成可易于加工的形式,可通过糖化剂(例如酶或酸)将原料中含有葡聚糖或木聚糖的纤维素水解为低分子量碳水化合物,如糖,这个过程称为糖化。随后,低分子量碳水化合物可用于例如现有制造工厂,如单细胞蛋白质工厂、酶制造工厂或燃料工厂(例如,乙醇制造设施)。

[0134] 例如通过使材料和酶在溶剂(例如,水溶液)中组合,可以使用酶水解原料。

[0135] 或者,可通过有机体供应酶,所述有机体分解生物质(如生物质的纤维素和/或木

质素部分),含有或制造各种纤维分解酶(纤维素酶)、木质素酶或各种小分子生物质降解代谢物。这些酶可为协同作用来降解生物质的晶体纤维素或木质素部分的酶的复合物。纤维素分解酶的实例包括:内切葡聚糖酶、纤维二糖水解酶以及纤维二糖酶(β -葡糖苷酶)。

[0136] 在糖化期间,可通过内切葡聚糖酶在随机位置初步水解纤维素底物产生低聚中间体。这些中间体随后为外切葡聚糖酶如纤维二糖水解酶的底物,以从纤维素聚合物的末端产生纤维二糖。纤维二糖是水溶性的1,4-连接的葡萄糖二聚体。最后,纤维二糖酶裂解纤维二糖以得到葡萄糖。此过程的效率(例如,水解的时间和/或水解的完成度)取决于纤维素材料的不顺应性。

[0137] 中间体和产品

[0138] 本文所述的方法优选用于生产丁醇(例如,异丁醇或正丁醇)和衍生物。然而,所述方法可用于生产其它产品、副产品以及中间体,例如在2011年10月18日提交并在2012年4月26日公布的美国专利申请公布2012/0100577中所述的产品,所述公布的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0139] 使用本文所述的方法,可将生物质材料转化为一种或多种产品,如能量、燃料、食品以及材料。产品的特定实例包括但不限于:氢气、糖(例如,葡萄糖、木糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖、果糖、二糖、寡糖以及多糖)、醇(例如,一元醇或二元醇,如乙醇、正丙醇、异丁醇、仲丁醇、叔丁醇或正丁醇)、水合醇或含水醇(例如,含有大于10%、20%、30%或甚至大于40%的水)、生物柴油、有机酸、烃(例如,甲烷、乙烷、丙烷、异丁烯、戊烷、正己烷、生物柴油、生物汽油以及其混合物)、副产品(例如,蛋白质,如纤维素分解蛋白(酶)或单细胞蛋白质)、以及处于任何组合或相对浓度的这些物质中的任何物质的混合物,并且所述任何物质任选与任何添加剂(例如,燃料添加剂)组合。其它实例包括羧酸、羧酸的盐、羧酸与羧酸的盐的混合物以及羧酸的酯(例如,甲基、乙基以及正丙基酯)、酮(例如,丙酮)、醛(例如,乙醛)、 α 和 β 不饱和酸(例如,丙烯酸)以及烯烃(例如,乙烯)。其它醇和醇衍生物包括:丙醇、丙二醇、1,4-丁二醇、1,3-丙二醇、糖醇以及多元醇(例如,乙二醇、甘油、赤藓糖醇、苏糖醇、阿糖醇、木糖醇、核糖醇、甘露醇、山梨醇、半乳糖醇、艾杜醇、肌醇、庚七醇、异麦芽酮糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇、麦芽三糖醇、麦芽四糖醇以及聚糖醇和其它多元醇)以及任何这些醇的甲基或乙基酯。其它产品包括丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸甲酯、乳酸、柠檬酸、甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、琥珀酸、戊酸、己酸、3-羟基丙酸、棕榈酸、硬脂酸、草酸、丙二酸、戊二酸、油酸、亚油酸、羟乙酸、 γ -羟基丁酸以及其混合物、任何这些酸的盐、任何所述酸及其对应盐的混合物。

[0140] 以上产品与彼此的任何组合和/或以上产品与其它产品(所述其它产品可通过本文所述的方法或以其它方式制备)的任何组合可包装在一起并且作为产品出售。可将产品组合,例如混合、共混或共溶解,或者可简单地包装在一起或一起出售。

[0141] 本文所述的任何产品或产品的组合可在产品出售之前,例如纯化或分离之后或甚至在包装之后进行消毒或灭菌,以中和可能存在于一种或多种产品中的一种或多种潜在不希望的污染物。可以用例如小于约20毫拉德,例如从约0.1毫拉德至15毫拉德、从约0.5毫拉德至7毫拉德或从约1毫拉德至3毫拉德剂量的电子轰击进行所述消毒。

[0142] 本文所述的方法可产生适用于产生用于工厂的其它部分(热电联产)或在公开市场上出售的蒸汽和电力的各种副产品流。例如,由燃烧副产品流产生的蒸汽可用于蒸馏过

程。作为另一个实例,由燃烧副产品流产生的电力可用于为预处理中使用的电子束发生器提供动力。

[0143] 用于产生蒸汽和电力的副产品来源于整个过程的众多来源。例如,废水的厌氧消化可产生甲烷含量高的沼气和少量废弃生物质(污泥)。作为另一个实例,可使用糖化后和/或蒸馏后固体(例如,从预处理和主要过程剩余的未转化的木质素、纤维素和半纤维素),例如作为燃料燃烧。

[0144] 获得的许多产品(如乙醇或正丁醇)可用作燃料,用于为汽车、卡车、拖拉机、船或火车提供动力,例如作为内部燃烧燃料或作为燃料电池原料。获得的许多产品还可用于为飞行器(如,例如具有喷气发动机的飞机,或直升机)提供动力。此外,本文所述的产物可以例如在常规蒸汽发电厂或燃料电池工厂中用于电能产生。

[0145] 包括食品和药物产品的其它中间体和产品描述于Medoff的2010年5月20日公布的美国专利申请公布2010/0124583 A1,所述公布的全部公开内容以引用的方式由此并入。

[0146] 后加工

[0147] 用于纯化产物的方法可包括使用离子交换树脂、活性炭、过滤、蒸馏、离心、色谱法、沉淀、结晶、蒸发、吸附以及其组合。在一些情况下,还例如通过加热或照射对发酵产物进行灭菌。

[0148] 糖化

[0149] 为了从不顺应性减小的原料获得果糖溶液,通常可通过将材料和纤维素酶在流体介质(例如水溶液)中组合来对处理的生物质材料进行糖化。在一些情况下,在糖化之前在热水中对材料进行煮沸、浸泡或蒸煮,如在2012年4月26日公布的Medoff和Masterman的美国专利申请公布2012/0100577 A1中所描述,所述公布的全部内容并入本文。

[0150] 糖化过程可在制造工厂的罐(例如,具有至少4000、40,000或500,000L的体积的罐)中部分或完全地进行,和/或可在转运中,例如在轨道车、油罐卡车中、或在超级油轮或船仓中部分或完全地进行。完全糖化所需要的时间将取决于工艺条件和所使用的生物质材料和酶。如果在控制的条件下在制造工厂中进行糖化,则可在约12-96小时内将纤维素基本上完全转化为糖,例如葡萄糖。如果在转运中部分或完全地进行糖化,则糖化可能花费较长时间。

[0151] 通常优选在糖化期间例如使用喷射混合对罐内容物进行混合,如在2010年5月18日提交的国际申请号PCT/US2010/035331中所描述,所述申请以英语公布为W0 2010/135380并且指定美国,所述申请的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0152] 表面活性剂的添加可提高糖化的速率。表面活性剂的实例包括非离子型表面活性剂(如Tween 20或Tween 80聚乙二醇表面活性剂)、离子型表面活性剂或者两性表面活性剂。

[0153] 通常优选由糖化得到的糖溶液的浓度相对较高,例如,大于40重量%,或大于50重量%、60重量%、70重量%、80重量%、90重量%或甚至大于95重量%。可以例如通过蒸发去除水分以增加糖溶液的浓度。这减小了待装运的体积并且还抑制了溶液中的微生物生长。

[0154] 可选地,可使用较低浓度的糖溶液,在这种情况下,可能希望以低浓度(例如,50ppm至150ppm)添加抗微生物添加剂,例如广谱抗生素。其它合适的抗生素包括两性霉素B、氨苄青霉素、氯霉素、环丙沙星、庆大霉素、潮霉素B、卡那霉素、新霉素、青霉素、嘌呤霉

素、链霉素。抗生素将在运输和储存期间抑制微生物的生长,并且可以适当的浓度(例如,以重量计在15ppm与1000ppm之间,例如,在25ppm与500ppm之间,或在50ppm与150ppm之间)使用。如果希望,则即使糖浓度相对较高也可包括抗生素。可选地,可使用具有抗微生物防腐特性的其它添加剂。优选的,一种或多种抗微生物添加剂是食品级的。

[0155] 可以通过限制与酶一起添加到生物质材料中的水量来获得相对较高浓度的溶液。可以例如通过控制糖化发生多少来控制浓度。例如,可以通过向溶液中添加更多生物质材料来增加浓度。为了保持正在溶液中产生的糖,可以添加表面活性剂,例如,以上所讨论的那些中的一种。也可以通过增加溶液的温度来增加溶解度。例如,可将溶液维持在40℃-50℃、60℃-80℃或甚至更高的温度下。

[0156] 通过向罐的内容物中添加葡萄糖异构酶,可获得高浓度果糖,而糖化不受罐中糖的抑制。可以任何量添加葡萄糖异构酶。例如,浓度可低于约500U/g纤维素(低于或等于100U/g纤维素、低于或等于50U/g纤维素、低于或等于10U/g纤维素、低于或等于5U/g纤维素)。浓度为至少约0.1U/g纤维素(至少约0.5U/g纤维素、至少约1U/g纤维素、至少约2U/g纤维素、至少约3U/g纤维素)。

[0157] 葡萄糖异构酶的添加使所产生糖的量增加至少5%(至少10%、至少15%、至少20%)。

[0158] 溶液中的糖浓度还可通过限制与酶一起添加到原料中的水的量来提高,和/或所述浓度可通过在糖化期间向溶液中添加更多原料来增大。为了保持正在溶液中产生的糖,可以添加表面活性剂,例如,以上所讨论的那些中的一种。也可以通过增加溶液的温度来增加溶解度。例如,可将溶液维持在40℃-50℃、60℃-80℃或甚至更高的温度下。

[0159] 糖化剂

[0160] 合适的纤维素分解酶包括纤维素酶。纤维素酶可以例如由以下属中的种获得:芽孢杆菌属、鬼伞属、毁丝霉属、头孢霉属、柱顶孢霉属、青霉属、曲霉属、假单孢菌属、腐质霉属、镰刀菌属、梭孢壳属、枝顶孢属、金孢子菌属以及木霉属;特别是由选自以下种的菌株产生的那些:曲霉属(参见,例如,欧洲公布号0 458 162)、特异腐质霉(*Humicola insolens*) (被重新分类为嗜热柱顶孢霉(*Scytalidium thermophilum*),参见例如美国专利号4,435,307)、灰盖鬼伞(*Coprinus cinereus*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、嗜热毁丝霉(*Myceliophthora thermophila*)、大型亚灰树花菌(*Meripilus giganteus*)、太瑞斯梭孢壳霉(*Thielavia terrestris*)、枝顶孢属某种(*Acremonium* sp.) (包括但不限于桃色枝顶孢(*A. persicinum*)、*A. acremonium*、*A. brachypenium*、*A. dichromosporum*、*A. obclavatum*、*A. pinkertoniae*、粉灰枝顶孢(*A. roseogriseum*)、*A. incoloratum*以及棕色枝顶孢(*A. furatum*))。优选菌株包括特异腐质霉DSM1800、尖孢镰刀菌DSM 2672、嗜热毁丝霉CBS 117.65、头孢霉属某种RYM-202、枝顶孢菌属某种CBS 478.94、枝顶孢菌属某种CBS 265.95、桃色枝顶孢CBS 169.65、玉米头包菌(*Acremonium acremonium*)AHU 9519、头孢霉属某种CBS 535.71、*Acremonium brachypenium* CBS 866.73、*A. dichromosporum* CBS 683.73、*Acremonium obclavatum* CBS 311.74、*Acremonium pinkertoniae* CBS 157.70、粉灰枝顶孢CBS 134.56、*Acremonium incoloratum* CBS 146.62,以及棕色枝顶孢CBS 299.70H。纤维素分解酶还可由金孢子菌属,优选*Chrysosporium lucknowense*的菌株获得。可使用的另外的菌株包括但不限于:木霉属(特别是绿色木霉(*T. viride*)、里氏木霉(*T. reesei*)以及康宁

木霉(*T.koningii*))、嗜碱性芽孢杆菌(*alkalophilic Bacillus*) (参见,例如美国专利号3,844,890和欧洲公布号0 458 162)以及链霉菌属(参见,例如欧洲公布号0 458 162)。

[0161] 可用于使生物质材料糖化并且产生糖的许多微生物还可用于使那些糖发酵并且转化成有用的产物。

[0162] 糖

[0163] 在本文所述的方法中,例如在糖化之后,可对糖(例如,葡萄糖和木糖)进行分离。例如,可以通过沉淀法、结晶法、色谱法(例如,模拟的移动床色谱法、高压色谱法)、离心法、萃取法、本领域已知的任何其它分离方法以及其组合来对糖进行分离。

[0164] 氢化和其它化学转变

[0165] 本文所述的方法可包括氢化。例如,葡萄糖和木糖可分别氢化为山梨醇和木糖醇。可以通过在高压(例如,10psi至12000psi)下与H₂组合使用催化剂(例如,Pt/ γ -Al₂O₃、Ru/C、雷尼镍或本领域已知的其它催化剂)来实现氢化。可以使用来自本文所述方法的产物的其它类型的化学转变,例如有机糖衍生的产物(例如,糠醛和糠醛衍生的产物)的产生。糖衍生的产物的化学转变描述于2012年7月3日提交的美国临时申请号61/667,481中,所述申请的公开内容以引用的方式整体并入本文。

[0166] 发酵

[0167] 优选地,梭菌属某些种用于将糖(例如,果糖)转化成丁醇。用于发酵的最佳pH为约pH 4至pH 7。例如,酵母的最佳pH为约pH 4至pH 5,而发酵单胞菌的最佳pH为约pH 5至pH 6。典型的发酵时间为约24小时至168小时(例如,24小时至96小时),其中温度范围为20℃至40℃(例如,26℃至40℃),然而嗜热微生物偏好较高的温度。

[0168] 在一些实施方案中,例如当使用厌氧有机体时,至少一部分发酵是在缺乏氧气,例如在惰性气体(如N₂、Ar、He、CO₂或其混合物)的覆盖下进行的。另外,所述混合物可在部分或全部发酵期间使惰性气体的持续吹扫流动通过罐。在一些情况下,可以通过发酵期间的二氧化碳产生来实现或维持厌氧条件而不需要额外的惰性气体。

[0169] 在一些实施方案中,可在低分子量糖完全转化成产物(例如,乙醇)之前中断全部或部分发酵过程。中间发酵产物包括高浓度的糖和碳水化合物。糖和碳水化合物可由本领域已知的任何手段进行分离。这些中间发酵产物可用于制备用于人或动物消耗的食品。另外或者可选地,可以在不锈钢实验室磨中将中间发酵产物磨碎成细小颗粒大小,以产生面粉状物质。

[0170] 可在发酵期间使用喷射混合,并且在一些情况下,可在同一个罐中进行糖化和发酵。

[0171] 可以在糖化和/或发酵期间添加微生物的营养物,例如,在2011年7月15日提交的美国专利申请公布2012/0052536中所述的基于食物的营养物包,所述公布的完整公开内容以引用的方式并入本文。

[0172] “发酵”包括在2012年12月22日提交的美国临时申请号61/579,559和2012年12月22日提交的美国临时申请号61/579,576中所公开的方法和产物,所述申请的内容均以引用的方式整体并入本文。

[0173] 可以利用移动发酵罐,如在国际申请号PCT/US2007/074028(所述申请在2007年7月20日提交,以英语公布为W0 2008/011598并且指定美国)中所描述的,所述申请的内容以

引用的方式整体并入本文。类似地,糖化设备可为移动的。此外,糖化和/或发酵可在转运期间部分或完全地进行。

[0174] 发酵剂

[0175] 尽管优选梭菌属,但是也可使用其它微生物。例如,酵母和发酵单胞菌属(*Zymomonas*)细菌可用于将一种或多种糖发酵或转化成其它一种或多种醇。其它微生物在下文进行讨论。它们可为天然存在的微生物和/或工程改造的微生物。例如,微生物可为细菌(包括但不限于,例如纤维素分解细菌)、真菌(包括但不限于,例如酵母)、植物、原生生物(例如,原生动物或类真菌原生生物(包括但不限于,例如黏菌)或海藻。当有机体相容时,可利用有机体的混合物。

[0176] 合适的发酵微生物具有将碳水化合物(如葡萄糖、果糖、木糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖、寡糖或多糖)转化成发酵产物的能力。发酵微生物包括以下种属的菌株:酵母属某些种(*Saccharomyces* spp.) (包括但不限于酿酒酵母(*S.cerevisiae*) (面包酵母)、糖化酵母(*S.distaticus*)、葡萄汁酵母(*S.uvarum*))、克鲁维酵母属(*Kluyveromyces*) (包括但不限于马克斯克鲁维酵母(*K.marxianus*)、脆壁克鲁维酵母(*K.fragilis*))、假丝酵母属(*Candida*) (包括但不限于伪热带假丝酵母(*C.pseudotropicalis*)和芸薹假丝酵母(*C.brassicae*))、树干毕赤酵母(*Pichia stipitis*) (休哈塔假丝酵母(*Candida shehatae*)的亲缘菌)、棒孢酵母属(*Clavispora*) (包括但不限于葡萄牙棒孢酵母(*C.lusitaniae*)和仙人掌棒孢酵母(*C.opuntiae*))、管囊酵母属(*Pachysolen*) (包括但不限于嗜鞣管囊酵母(*P.tannophilus*))、酒香酵母属(*Bretannomyces*) (包括但不限于,例如克劳森酒香酵母(*B.clausenii*) (Handbook on Bioethanol:Production and Utilization,Wyman,C.E.编辑,Taylor&Francis,Washington,DC,179-212中的Philippidis,G.P.,1996,Cellulose bioconversion technology))。其它合适的微生物包括例如运动发酵单胞菌(*Zymomonas mobilis*)、梭菌属某些种(*Clostridium* spp.) (包括但不限于热纤维梭菌(*C.thermocellum*) (Philippidis,1996,同上)、糖丁基丙酮梭菌(*C.saccharobutylaceticum*)、糖丁酸梭菌(*C.saccharobutylicum*)、略紫色梭菌(*C.Puniceum*)、拜氏梭菌(*C.beijerinckii*)以及丙酮丁醇梭菌(*C.acetobutylicum*))、丛梗孢酵母(*Moniliella pollinis*)、*Moniliella megachiliensis*、乳杆菌属某些种(*Lactobacillus* spp.)、解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)、短梗霉属某种(*Aureobasidium* sp.)、三型孢菌某种(*Trichosporonoides* sp.)、变异三角酵母(*Trigonopsis variabilis*)、毛孢子菌属某种(*Trichosporon* sp.)、丛梗孢酵母属某种(*Moniliella acetobutans* sp.)、*Typhula variabilis*、木兰假丝酵母(*Candida magnolia*)、黑粉菌纲某种(*Ustilaginomycetes* sp.)、*Pseudozyma tsukubaensis*、接合酵母属(*Zygosaccharomyces*)的酵母种、德巴利酵母属(*Debaryomyces*)、汉逊酵母属(*Hansenula*)和毕赤酵母属(*Pichia*)、以及暗丛梗孢形圆酵母属(*Torula*)的真菌。

[0177] 例如,梭菌属某些种可用于产生乙醇、丁醇、丁酸、乙酸和丙酮。乳杆菌属某些种可用于产生乳酸。

[0178] 许多所述微生物菌株可公开商购获得抑或通过储藏所获得,所述储藏所如,例如,ATCC(美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection),Manassas, Virginia,USA)、NRRL(农业研究机构保藏中心(Agricultural Research Service Culture

Collection), Peoria, Illinois, USA) 或 DSMZ (德意志微生物保藏中心 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH), Braunschweig, 德国)。

[0179] 可商购获得的酵母包括, 例如, RedStar®/Lesaffre Ethanol Red (购自 Red Star/Lesaffre, USA)、FALI® (购自 Fleischmann's Yeast (Burns Philip Food Inc. 的部门), USA)、SUPERSTART® (购自 Alltech, 现在的 Lalemand)、GERTSTRAND® (购自 Gert Strand AB, 瑞典) 以及 FERMOL® (购自 DSM Specialties)。

[0180] 可用于使生物质材料糖化并且产生糖的许多微生物还可用于使那些糖发酵并且转化成有用的产物。

[0181] 蒸馏

[0182] 发酵之后, 可使用例如“醪塔”对所得的流体进行蒸馏, 以使乙醇和其它醇与大部分水和残余固体分离。流出醪塔的蒸气可以是例如 35 重量% 乙醇并且可进料到精馏塔中。可以使用气相分子筛将来自精馏塔的接近共沸的 (92.5%) 乙醇与水的混合物纯化至纯 (99.5%) 乙醇。可将醪塔底部物传送到三级蒸发器的第一级。精馏塔回流冷凝器可为此第一级提供热量。在第一级之后, 可以使用离心机分离固体并且在旋转干燥器中干燥。可将离心机流出液的一部分 (25%) 再循环至发酵, 并且将其余部分传送到第二蒸发器级和第三蒸发器级。大部分蒸发器冷凝液可作为相当干净的冷凝液返回到所述过程中, 其中分离小部分至废水处理以防止低沸点化合物的堆积。

[0183] 除了在本文的实施例中或者除非以其它方式明确指出之外, 本说明书的以下部分和所附权利要求书中的所有数值范围、量、值以及百分比, 如用于材料的量、元素含量、反应的时间和温度、量之比以及其它的那些, 可被理解为如同前置有词语“约”, 即使术语“约”可能没有连同值、量或范围明确地出现。因此, 除非有相反的指示, 否则以下说明书和所附权利要求书中所阐述的数值参数为近似值, 其可根据本发明要寻求获得的所需性质而变化。在最低限度并且不试图限制对权利要求书范围的等价范围的原则的应用, 每个数值参数均应当至少根据报道的有效数字的数值和通过应用普通四舍五入技术来解读。

[0184] 尽管陈述本发明的宽泛范围的数值范围和参数是近似值, 但在特定实施例中所述数值尽可能准确地进行报道。然而, 任何数值都固有地含有必然由其以下各自测试量测中存在的标准偏差引起的误差。此外, 当在本文阐述数值范围时, 这些范围是将所引用范围端点包含在内的 (即, 可使用端点)。当本文使用以重量计的百分比时, 所报道的数值相对于总重量。

[0185] 同样, 应理解, 本文所引用的任何数值范围意在包括其中包含的所有子范围。例如, “1 至 10” 的范围意在包括在引用的最小值 1 与引用的最大值 10 (含 1 和 10) 之间的所有子范围, 即具有等于或大于 1 的最小值以及等于或小于 10 的最大值。除非另外指明, 否则如本文使用的术语“一个/种 (one、a 或 an)” 意在包括“至少一个/种”或“一个或多个/一种或多种”。

[0186] 本申请还涉及如下实施方案:

[0187] 1. 一种方法, 所述方法包括:

[0188] 通过将含有一种或多种糖的纤维素或木质纤维素生物质与能够将所述糖中的至少一种转化为糖醇的微生物组合、以及将所述微生物-生物质组合维持在使所述微生物能将所述糖中的至少一种转化为所述糖醇的条件下, 而由所述纤维素或木质纤维素生物质制

备所述糖醇。

[0189] 2.如实施方案1所述的方法,所述方法进一步包括在使所述生物质与所述微生物接触之前减小所述纤维素或木质纤维素生物质的不顺应性。

[0190] 3.如实施方案1或2所述的方法,所述方法进一步包括使所述纤维素或木质纤维素生物质糖化。

[0191] 4.如实施方案1至3中任一项所述的方法,其中所述糖醇选自由以下组成的组:乙二醇、甘油、赤藓糖醇、苏糖醇、阿糖醇、木糖醇、核糖醇、甘露醇、山梨醇、半乳糖醇、艾杜醇、肌醇、庚七醇、异麦芽酮糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇、麦芽三糖醇、麦芽四糖醇以及聚糖醇。

[0192] 5.如实施方案4所述的方法,其中所述糖醇包括赤藓糖醇。

[0193] 6.如以上实施方案中任一项所述的方法,其中所述微生物选自由以下组成的组:丛梗孢酵母、*Moniliella megachiliensis*、解脂耶氏酵母、短梗霉属某种、三型孢菌某种、变异三角酵母、毛孢子菌属某种、丛梗孢酵母属、*Typhula variabilis*、木兰假丝酵母、黑粉菌纲、*Pseudozyma tsukubaensis*、接合酵母属的酵母种、德巴利酵母属、汉逊酵母属和毕赤酵母属;以及暗丛梗孢形圆酵母属的真菌。

[0194] 7.如实施方案6所述的方法,其中所述微生物为丛梗孢菌的种。

[0195] 8.如实施方案7所述的方法,其中所述微生物为丛梗孢酵母。

[0196] 9.如实施方案8所述的方法,其中所述微生物为丛梗孢酵母菌株CBS 461.67。

[0197] 10.如实施方案7所述的方法,其中所述微生物为*M.megachiliensis*。

[0198] 11.如实施方案10所述的方法,其中所述微生物为*M.megachiliensis*菌株CBS 567.85。

[0199] 12.如以上实施方案中任一项所述的方法,其中所述纤维素或木质纤维素生物质选自由以下组成的组:纸、纸制品、废纸、纸浆、有色纸、装料纸、涂布纸、填充纸、杂志、印刷品、打印纸、多涂层纸、卡片材料、卡纸板、纸板、棉花、木材、刨花板、林业废弃物、锯末、杨木、木屑、草、柳枝稷、芒草、绳草、草芦、谷物残渣、稻壳、燕麦壳、小麦壳、大麦壳、农业废弃物、青贮饲料、油菜秸、小麦秸、大麦秸、燕麦秸、稻秸、黄麻、大麻、亚麻、竹子、剑麻、蕉麻、玉米穗轴、玉米秸秆、大豆秸秆、玉米纤维、苜蓿、干草、椰子毛、糖加工残渣、甘蔗渣、甜菜浆、龙舌兰渣、海藻、海草、粪肥、污物、下水、农业或工业废弃物、秘鲁胡萝卜、荞麦、香蕉、大麦、木薯、葛藤、圆齿酢酱草、西米、高粱、马铃薯、甘薯、芋头、山药、豆类、蚕豆、扁豆、碗豆,以及任何这些的混合物。

[0200] 13.如实施方案2所述的方法,其中所述不顺应性通过选自由以下组成的组的处理方法来减小:用电子轰击、超声处理、氧化、热解、蒸汽爆炸、化学处理、机械处理以及冷冻研磨。

[0201] 14.如实施方案13所述的方法,其中所述处理方法为用电子轰击。

[0202] 15.如以上实施方案中任一项所述的方法,其中所述生物质材料为木质纤维素生物质。

[0203] 16.如以上实施方案中任一项所述的方法,所述方法进一步包括对所述纤维素或木质纤维素生物质进行机械处理以减小其堆积密度和/或增大其表面积。

[0204] 17.如实施方案16所述的方法,其中对所述纤维素或木质纤维素生物质进行粉碎。

[0205] 18.如实施方案17所述的方法,其中所述粉碎为干磨。

- [0206] 19.如实施方案17所述的方法,其中所述粉碎为湿磨。
- [0207] 20.如实施方案3所述的方法,其中所述生物质用一种或多种纤维素酶糖化。
- [0208] 21.如以上实施方案中任一项所述的方法,所述方法进一步包括在将所述纤维素或木质纤维素生物质与所述微生物组合之前分离所述一种或多种糖。
- [0209] 22.如以上实施方案中任一项所述的方法,所述方法进一步包括在将所述纤维素或木质纤维素生物质与所述微生物组合之前浓缩所述一种或多种糖。
- [0210] 23.如以上实施方案中任一项所述的方法,所述方法进一步包括在将所述纤维素或木质纤维素生物质与所述微生物组合之前,对处于细胞生长阶段的所述微生物进行培养。
- [0211] 24.如实施方案3所述的方法,其中调节所糖化的生物质以具有至少5wt%的初始葡萄糖浓度。
- [0212] 25.如实施方案3所述的方法,所述方法进一步包括纯化所述糖化的生物质。
- [0213] 26.如实施方案25所述的方法,其中所述纯化包括除去金属离子。

实施例

[0214] 实施例1.材料与amp;方法

[0215] 菌种培养物的制备:使用储存在-80℃的丛梗孢菌细胞接种增殖培养基(20g/L麦芽提取物、1g/L蛋白胨、20g/L葡萄糖),并在30℃和200rpm搅拌下孵育72小时。随后将培养物转移到生物反应器(3L、20L或400L)中用于赤藓糖醇生产。

[0216] 主培养:赤藓糖醇生产培养基由10g/L酵母提取物、1g/L植酸、1g/L硝酸钾、100g/L氯化钙、10mg/L硫酸铜、50mg/L氯化锌以及300g/L葡萄糖(试剂级,来自Sigma)或内部制备的纯化的糖化玉米穗轴组成。

[0217] 用来自电子束的35毫拉德处理玉米穗轴,并且用内部制备的纤维素酶进行糖化。随后通过阳离子交换(Diaion PK228,Mitsubishi Chemical Corporation)和阴离子交换(Diaion JA300,Mitsubishi Chemical Corporation)对糖化的玉米穗轴进行纯化。

[0218] 实施例2.培养条件的确定

[0219] 生物反应器培养由3L容器中的1.5L、20L容器中的10L或400L容器中的250L组成。各自的接种物由在生物反应器中以5%的体积添加的72-小时培养的菌种培养物组成。将通气调节为0.3至1VVM,搅拌为300-1000rpm,并且温度为35℃。以1.5ml/L/天的速率持续添加Antifoam 204。

[0220] 测试十二种不同酵母提取物对赤藓糖醇生产的影响。结果为:Granulated Fisher(105g/L赤藓糖醇生产)、Thermo Oxoid(30g/L)、Bacto Tech(94g/L)、Fluka(108g/L)、Thermo Remel(111g/L)、Teknova(108g/L)、Acros(93g/L)、Boston(96g/L)、Sunrise(8g/L)、US Biochem(88g/L)、Sigma(76g/L)、以及BD(90-120g/L)。对Granulated Fisher、Bacto Tech、Fluka、Thermo Remel、Teknova、Acros、Boston、US Biochem以及BD继续进行另外的测试。

[0221] 测试十二种不同的消泡剂。这些为:Antifoam A、Antifoam B、Antifoam C、Antifoam O-30、Antifoam SE-15、Antifoam Y-30、Silicone Antifoam、Antifoam 204(全部来自Sigma Chemical Company, St, Louis, Missouri, USA)、Antifoam AF(来自Fisher)、

KFO 880、KFO 770、以及Foam Blast 779(来自Emerald Performance Materials)。

[0222] 表1a. 针对赤藓糖醇生产测试培养基组分。

	培养基组分	测试的范围	工作范围*	最佳范围
	植酸(培养期)	有植酸	3-4 天达到最大产量	有植酸
	植酸(培养期)	没有植酸	10-12 天达到最大产量	
	植酸(量)	0.3 - 9 g/L	0.3 - 1.0 g/L	0.3 - 1.0 g/L
	磷酸二氢钠(培养期)	2-12 g/L	2-12 g/L(3-4 天达到最大产量)	较低产率, 与植酸相比
	氯化钙(量)	10-300 mg/L	10-150 mg/L	100 mg/L
[0223]	葡萄糖(量)	150-600 g/L	200-400 g/L	300 g/L
	硫酸铜(量)	2-250 mg/L	2-250 mg/L	10 mg/L
	酵母提取物(量)	5-20 g/L	9-13 g/L	10 g/L
	酵母提取物(品牌)	12 种不同品牌	9 种不同品牌	Fluka YE
	氯化锌(量)	25-100 mg/L	25-100 mg/L	50 mg/L
	消泡剂(品牌)	12 种不同试剂	KFO 880 ; Antifoam 204	Antifoam 204
	氮源	5 种不同来源	尿素; 硝酸钠; 硝酸铵; 硫酸铵; 硝酸钾	硝酸钾
[0224]	硝酸钾(量)	0.5-5 g/L	0.5-5 g/L	1 g/L

[0225] *“工作范围”确定为从300g/L葡萄糖产生大于80g/L赤藓糖醇的条件。

[0226] 表1b. 针对赤藓糖醇生产测试培养条件

	测试的条件	测试的范围	工作范围*	最佳范围
	搅拌(在 3 L 生物反应器中的速度)	450-1000 rpm	600-1000 rpm	800 rpm
	搅拌(在 20 L 生物反应器中的速度)	300-650 rpm	400-650 rpm	650 rpm
[0227]	通气(VVM)	0.3-1 VVM	0.3-1 VVM	0.6 VVM
	培养温度	30-40°C	30-37°C	35°C
	湍流(在 400 L 生物反应器中的汲取管)	有/没有汲取管	有汲取管	有汲取管

[0228] *“工作范围”确定为从300g/L葡萄糖产生大于80g/L赤藓糖醇的条件。

[0229] 实施例3. 从梗孢菌在3L生物反应器中的生物反应器培养。

[0230] 在具有各种培养基组分条件(表1a)的3L生物反应器(1.5L培养体积)的生产培养基中培养丛梗孢酵母(菌株CBS 461.67;Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands)。植酸将培养期缩短为3至4天,而在没有植酸的情况下赤藓糖

醇生产花费10至12天(表1a)。测试每种组分(植酸、酵母提取物、磷酸二氢钠、氯化钙、葡萄糖、硫酸铜、氯化锌、硝酸钾)以获得最佳浓度(表1a)。还测试了包括搅拌、通气、温度的物理条件(表1b)。典型赤藓糖醇产量为从300g/L葡萄糖生产80g/L至120g/L赤藓糖醇。

[0231] 下表显示出在具有最佳浓度的培养基组分(300g/L葡萄糖、10g/L酵母提取物、1g/L植酸、1g/L硝酸钾)的丛梗孢菌菌株CBS 461.67的3L生物反应器培养中的赤藓糖醇生产。

[0232] 表2. 从300g/L葡萄糖生产赤藓糖醇和其它产物

	天	甘油	赤藓糖醇	核糖醇	乙醇
	0	0	0	0	0
[0233]	1	7.13	3.66	0	5.39
	2	33.50	35.69	3.51	9.68
	3	33.77	92.13	4.79	2.86
	4	16.89	88.51	4.92	0.45

[0234] 实施例4. 丛梗孢菌在20L生物反应器中的生物反应器培养。

[0235] 发现搅拌速度很大地影响赤藓糖醇生产。在20L生物反应器中以10L培养体积在三种不同速度(300rpm、400rpm、650rpm)下、在1VVM和35℃下、在由酵母提取物(10g/L)、KNO₃(1g/L)、植酸(1g/L)、CuSO₄(2mg/L)组成的培养基中生产赤藓糖醇。400rpm和650rpm培养还包括三个叶轮。650rpm培养在0.6VVM下而不是在1VVM下进行通气。

[0236] 在300rpm的搅拌速度下的生物反应器培养导致比在650rpm下的相同培养低得多的赤藓糖醇生产。另一方面,通过增加搅拌速度减小了乙醇生产。

[0237] 表3. 搅拌速度对赤藓糖醇生产的影响

	天	甘油	赤藓糖醇	核糖醇	乙醇	葡萄糖
	300 rpm					
	0	4.09	3.35	0	2.63	> 50
	1	10.80	5.95	3.06	15.15	> 50
	2	18.48	19.39	0	24.44	> 50
	3	24.24	48.09	0	32.37	70.74
	4	25.27	59.51	0	25.15	0
	5	23.36	64.09	3.60	8.48	0
	6	21.59	63.70	3.66	2.32	
	7	19.35	59.69	3.65	1.50	
	400 rpm					
[0238]	0	0	0	0	0	300
	1.3	7.09	4.21	0	21.16	>150
	3	16.07	80.01	3.41	22.43	48.70
	4	9.56	92.08	3.88	11.04	0
	4.3	7.16	94.70	3.94	4.57	0
	5	4.08	86.30	3.68	1.31	0
	650 rpm					
	0	0	0	0	0	300
	2	18.01	89.13	4.13	6.57	112.57
	3	30.72	145.67	6.86	1.61	4.31
	4	16.02	129.69	6.59	1.39	0
	5	12.65	147.54	6.87		0

[0239] 实施例5. 从梗孢菌在400L生物反应器中的生物反应器培养。

[0240] 发现在400L生物反应器中的赤藓糖醇生产中氧转移速度是关键因素。使用两个汲取管增大湍流, 将空气喷射器安装在容器底部, 并且增大纵横比。结果 (以g/L计) 显示在下表中。

[0241] 表4. 400L生物反应器中赤藓糖醇和其它产物的生产

	天	甘油	赤藓糖醇	核糖醇	乙醇
	0	0	0	0	0
[0242]	1	6.1	9.2	1.5	15.3
	2	10.0	60.3	1.7	19.3
	3	11.8	75.3	0	27.7

[0243] 实施例6. 糖化产物的纯化

[0244] 对玉米穗轴进行糖化并通过离子交换纯化所得的糖混合物。使用阳离子交换和阴离子交换除去下表所列出的金属组分。

[0245] 表5. 在离子交换之前和之后, 含有100g/L葡萄糖的糖化的玉米穗轴溶液中的金属元素(以ppm计)。

	元素	离子交换之前	阳离子交换之后	阳离子交换和阴离子交换之后
[0246]	Mn	9	0	0
	Zn	9	0	0
	Si	71	70	0
	Fe	14	0	0
	P	668	704	0
	K	4951	20	0
	Mg	418	0	0
	Na	10099	0	0
	Ca	342	0	0
	S	2048	2372	37

[0247] 随后使用纯化的糖化玉米穗轴溶液来通过两种不同的丛梗孢菌菌株CBS 461.67 (丛梗孢酵母) 和CBS 567.85 (*Moliniella megachiliensis*), 生产赤藓糖醇。使用了烧瓶培养, 并且培养基组分包括10g/L酵母提取物、1g/L硝酸钾、0.3g/L植酸、2mg/L硫酸铜以及纯化的糖化玉米穗轴。在2天内消耗了葡萄糖并且几乎没有消耗木糖。

[0248] 表6. 通过两种不同菌株由含有160g/葡萄糖和140g/L木糖的纯化的糖化玉米穗轴生产赤藓糖醇。

	天	甘油	赤藓糖醇	核糖醇	乙醇	果糖
[0249]	菌株 CBS 461.67					
	0	6.85	4.54	0	0.36	9.78
	2	9.22	31.20	0	22.35	0
	3	7.30	33.46	0	19.80	0
[0250]	菌株 CBS 567.85					
	0	0	4.54	0	0.21	10.30
	2	9.72	29.36	0	22.52	0
	3	7.82	45.99	0	19.47	0

[0251] 赤藓糖醇生产产率在CBS 461.67中为21%并且在CBS 567.85中为28%。此产率与用试剂级葡萄糖进行的赤藓糖醇生产(30%至40%产率)相当。

[0252] 被描述成以引用方式全文或部分并入本文的任何专利、公布或其它公开材料必须满足以下前提: 并入的材料不得与本公开内容中阐述的现有定义、声明或其它公开材料冲

突。因此,并且在必要的程度上,如本文所明确阐述的公开取代以引用的方式并入本文的任何冲突的材料。据称以引用的方式并入本文、但与本文所阐述的现有定义、陈述、或其它公开材料相冲突的任何材料或其部分将仅仅是在不会在所并入的材料与现有公开材料之间出现冲突的程度上并入。

[0253] 虽然本发明已参考其优选实施方案进行特定显示和描述,但是本领域技术人员应了解,可在不脱离由随附权利要求书所涵盖的本发明的范围的情况下在其中在形式和细节方面做出各种改变。

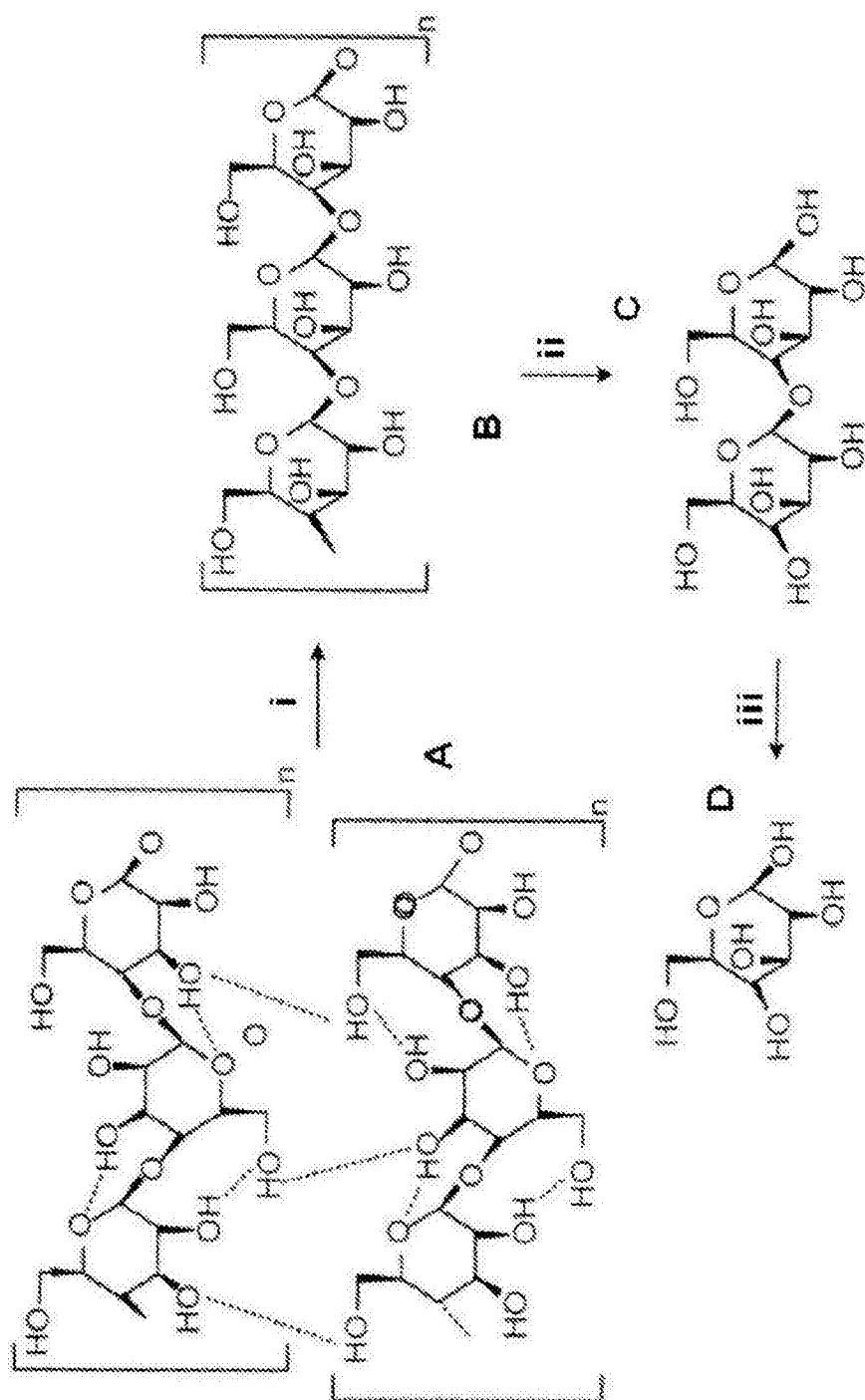


图1

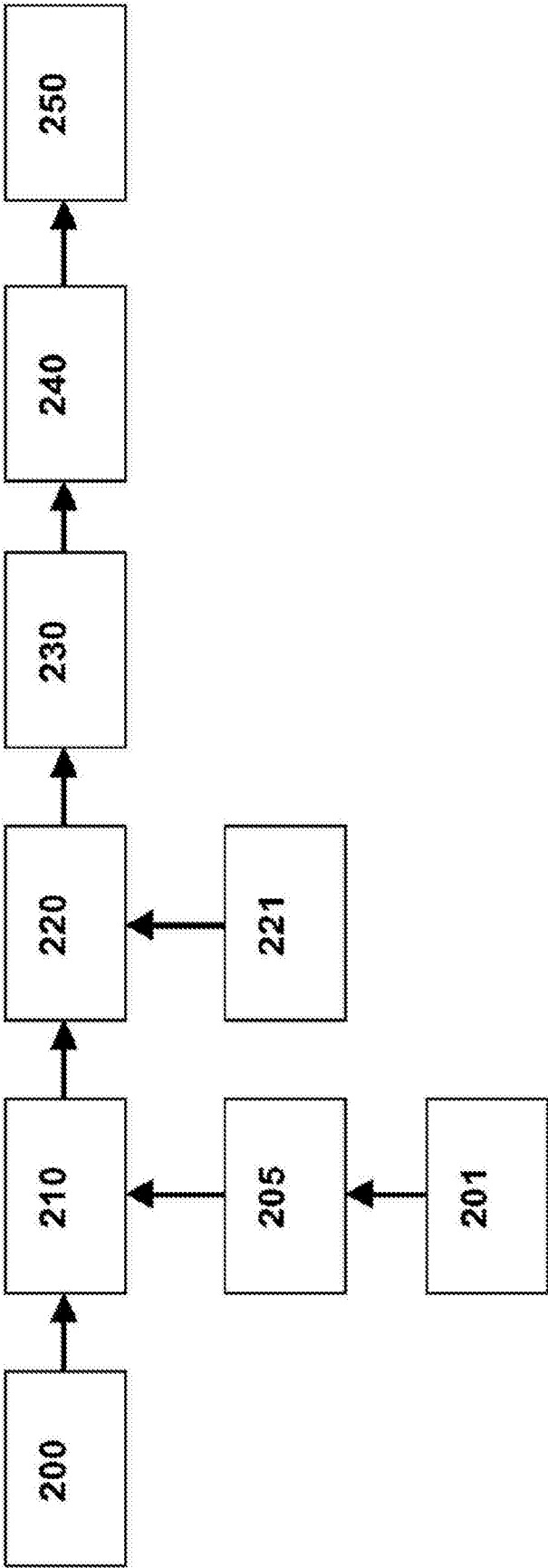


图2