



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012116511/13, 27.09.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
27.09.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

25.09.2009 US 61/245,763;

24.09.2010 US 12/889,979

(43) Дата публикации заявки: 27.10.2013 Бюл. № 30

(45) Опубликовано: 20.04.2015 Бюл. № 11

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: WO 2007/149450 A2 27.12.2007. SU  
1036016 A1 30.03.1985. JP 60066973 A  
17.04.1985(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 25.04.2012(86) Заявка РСТ:  
US 2010/050342 (27.09.2010)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2011/038317 (31.03.2011)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, строение 3,  
ООО "Юридическая фирма Городисский и  
Партнеры"

(72) Автор(ы):

САМНЕР Эрик Гай (US),

ОКУЛЛ Деррик (US),

СОЛОМОН Эйтан Барух (US)

(73) Патентообладатель(и):

Е.И.ДЮПОН ДЕ НЕМУР ЭНД

КОМПАНИ (US)

## (54) СТАБИЛИЗИРОВАННЫЙ ДИОКСИД ХЛОРА ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО СЫРЬЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к способам сохранения углеводного сырья от микроорганизмов. Осуществляют контакт углеводного сырья при единичной операции. Единичная операция представляет собой хранение или перевозку сырья со стабилизированным диоксидом хлора при pH по меньшей мере 2,6 в течение по меньшей мере одного месяца перед использованием углеводного сырья в процессе ферментации. Концентрация

углевода составляет по меньшей мере 1% по весу сырья, количество добавленного стабилизированного диоксида хлора составляет от 10 до 10000 мг/кг, как ClO<sub>2</sub> от общего веса сырья. При этом микробная популяция сохраненного сырья не подвергается ее увеличению более чем 1 log<sub>10</sub> КОЕ/мл или 1 log<sub>10</sub> КОЕ/г по меньшей мере в течение одного месяца. 10 з.п. ф-лы, 2 табл., 2 пр.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 549 101** (13) **C2**

(51) Int. Cl.

*A01N* 59/00 (2006.01)

*A23L* 3/358 (2006.01)

*C01B* 11/02 (2006.01)

*C12P* 7/06 (2006.01)

## (12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2012116511/13, 27.09.2010

(24) Effective date for property rights:  
27.09.2010

Priority:

(30) Convention priority:  
25.09.2009 US 61/245,763;  
24.09.2010 US 12/889,979

(43) Application published: 27.10.2013 Bull. № 30

(45) Date of publication: 20.04.2015 Bull. № 11

(85) Commencement of national phase: 25.04.2012

(86) PCT application:  
US 2010/050342 (27.09.2010)

(87) PCT publication:  
WO 2011/038317 (31.03.2011)

Mail address:  
129090, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, stroenie 3,  
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery"

(72) Inventor(s):

**SAMNER Ehrik Gaj (US),  
OKULL Derrik (US),  
SOLOMON Ehjtan Barukh (US)**

(73) Proprietor(s):

**E.I.DJuPON DE NEMUR EhND KOMPANI  
(US)**

(54) **STABILISED CHLORINE DIOXIDE FOR PRESERVATION OF CARBOHYDRATE FEEDSTOCK**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to methods of carbohydrate feedstock preserving against microorganisms. Contacting the carbohydrate feedstock in a unit operation is executed. The unit operation involves the carbohydrate feedstock storage or transportation with stabilised chlorine dioxide at a pH of at least 2.6 over a period of at least one month before its use in the fermentation process.

EFFECT: carbohydrate concentration of at least 1% by the feedstock weight, the amount of added stabilised chlorine dioxide ranges from 10 to 10000 mg/kg, as ClO<sub>2</sub> based on the total feedstock weight, the microbial population of the preserved feedstock does not undergo an increase of more than 1 log<sub>10</sub> CFU/ml or 1 log<sub>10</sub> CFU/g for at least one month.

11 cl, 2 tbl, 2 ex

## ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к способу существенного предотвращения роста микробов в углеводном сырье при хранении или перевозке, включая способ, где раствор или суспензия является сырьем, предназначенным для получения топливного этанола.

## ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В последнее время наблюдается существенный рост комплексной переработки биомассы, при которой любое количество сельскохозяйственного сырья может быть превращено в возобновляемые виды топлива, а также ценные химические продукты, материалы и фармацевтические препараты. Переработка биомассы выполняется по принципу, подобному переработке нефтехимических продуктов. Поступающее сырье для переработки биомассы включает такие традиционные сельскохозяйственные продукты, как кукуруза, мило, пшеница, ячмень, просо, солома, сорго, сахарный тростник, сахарная свекла, меласса, сыворотка, фрукты и картофель, а также другие продукты, которые в настоящее время классифицируются как отходы, такие как древесные отходы, жом, бумажные отходы и городские твердые отходы.

Привлекательность такого сырья объясняется содержанием углеводов, которые могут быть использованы в качестве реагента при переработке биомассы. Продукты переработки биомассы могут быть предназначены для потребления человеком, например сахар, полученный из сахарного тростника, или меласса, полученная из сахарной свеклы, или для применения в качестве топлива или в химическом синтезе, например этанол и янтарная кислота, получаемые из кукурузы.

Наиболее перспективным применением переработки биомассы является получение топливного этанола. Поскольку запасы нефти истощаются и становятся более дорогими, повышается потребность в альтернативных и предпочтительно поддерживаемых источниках энергии. Этанол представляет собой вариант частичной или полной замены видов топлива на основе нефти для отдельных областей применения. Автомобили, работающие на этаноле, являются реальностью. Применение этанола в качестве возобновляемого источника топлива имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционным бензином.

В настоящее время и технический этанол (например, топливо), и этанол для напитков производятся в промышленном масштабе из сельскохозяйственного (натурального) сырья ферментацией инокулятными дрожжами, при которых сахар превращается в этанол и диоксид углерода. Многие виды сырья могут быть использованы в качестве исходного источника сахара для обеспечения процесса ферментации, потенциально включая любой крахмальный или целлюлозный материал, который включает почти все растения, поскольку любой из видов крахмала или целлюлозы может быть предшественником сахара. Некоторые из общих видов сырья, особенно приемлемые для получения топливного этанола, включают кукурузу, мило, сорго, сахарный тростник, сахарную свеклу и мелассу.

Серьезной проблемой, стоящей перед переработкой биомассы, является ухудшение качества сырья при хранении и перевозки. Как сырьевые сельскохозяйственные материалы эти виды сырья традиционно содержат высокие уровни таких нежелательных микроорганизмов, как бактерии, грибы и нежелательные дрожжи, которые могут ухудшать (портить) сырье до реализации способа переработки биомассы. Эти микроорганизмы могут быть введены как часть исходного сырья или стадий предварительной подготовки кукурузного сырья. Нежелательные микроорганизмы могут содержать ферменты, которые превращают сырье в сахара, которые метаболизируются микроорганизмом, облегчая его рост. Таким образом, ценное сырье

теряется за счет потребления микроорганизмом. Рост этих микроорганизмов снижает ценность поступающего сырья. В конкретном примере серьезной проблемой хранения мелассы и сока сахарного тростника или сахарной свеклы является снижение содержания сахара из-за действия таких микроорганизмов как *Leuconostoc* или *Lactobacillus*, вызывающих ухудшение качества.

Тогда как биоциды обычно применяются для обработки материалов, содержащих нежелательные микроорганизмы, они являются неспецифическими и действуют на целевые и нецелевые микроорганизмы. Биоциды плохо работают в ферментационных системах, потому что они действуют на инокулянтные дрожжи. Диоксид хлора является биоцидом, который использовался в ферментационных системах для лечения микроорганомной инфекции. Диоксид хлора может быть введен как газ диоксида хлора из приемлемого генератора диоксида хлора. Альтернативно, стабилизированный диоксид хлора (SCD) может быть активирован контактом с кислотой. Применение SCD для предотвращения микроорганомной инфекции в присутствии кислоты раскрыто в WO 2007/149450.

Ziegler в WO 2007/097874 раскрывает метод уменьшения нежелательных микроорганизмов, таких как бактерии, загрязняющие дрожжи или дрожжи убийцы, в процессе ферментации с использованием газа диоксида хлора ( $\text{ClO}_2$ ). Этот процесс требует производственное оборудование и реагенты, необходимые для получения газа  $\text{ClO}_2$ . Полученный  $\text{ClO}_2$  должен использоваться непосредственно сразу после получения, потому что он разлагается при воздействии света или при контакте с любым органическим веществом, включая вещества, присутствующие в процессе ферментации. Ziegler выступает против применения стабилизированного диоксида хлора, поскольку это является трудоемким и неточным с возможностью уничтожения желательных дрожжей и/или ингибирования нужных ферментов.

Стабилизированный диоксид хлора является коммерчески доступным. Стабилизированный диоксид хлора обычно является буферизированным раствором (например, с использованием карбонатного буфера для обеспечения щелочного pH) натрия хлорита, хотя также существуют другие источники диоксида хлора. Буферизированные растворы натрия хлорита являются стабильными в течение длительного периода времени. Буферизированные растворы натрия хлорита могут генерировать диоксид хлора при их активировании, например, путем химического окисления (например, озоном или хлором), электрохимическим окислением или подкислением (например, с использованием такой сильной кислоты, как HCl). См., например, "Chlorine Oxygen Acids and Salts, Chlorous Acid, Chlorites and Chlorine Dioxide", Jerry J. Kaczur and David W. Cawfield, published online: 04 December, 2000, в Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.

Остается потребность в способе снижения уровня загрязнений микроорганизмами в сырье, предназначенном для применения в ряде способов переработки биомассы. Содержащее углевод сырье, включающее сахаросодержащие культуры и целлюлозное сырье, подвержено ухудшению качества микроорганизмами. Способы переработки биомассы включают изготовление топливного этанола, разложение содержащей целлюлозу биомассы, получение сахара (из сахарного тростника и/или сахарной свеклы), переработку сахарного тростника, обработку таких крахмалов, таких как картофельный крахмал и кукурузный крахмал среди прочих. Кроме того, существует потребность в способе предотвращения загрязнения сырья, такого как растворы углеводов и суспензии, при хранении и перевозках.

Необходим простой и экономичный способ стабилизации углеводного сырья при

хранении и перевозке. Необходим способ, при котором не вводят излишние и/или нежелательные средства в сырье, особенно средство, отрицательно влияющее на качество продуктов переработки биомассы, такого как этанол.

Данное изобретение удовлетворяет указанным выше требованиям.

## **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Способ сохранения углеводного сырья от загрязняющих микроорганизмов заключается в контакте углеводного сырья со стабилизированным диоксидом хлора при pH по меньшей мере 2,6. Концентрация углевода в сырье составляет по меньшей мере 1% и предпочтительно варьируется от 1 до 70% по весу от общего веса сырья.

Количество стабилизированного диоксида хлора составляет от 10 до 10000 мг/кг в виде доступного диоксида хлора от общего веса сырья. Углеводное сырье предпочтительно включает углевод природного происхождения. Неожиданно было обнаружено, что способ является эффективным в отсутствии добавленной кислоты или оксиданта для образования диоксида хлора.

Товарные знаки в данном документе обозначаются заглавными буквами.

Данное изобретение включает способ сохранения углеводного сырья от ухудшения качества загрязняющими микроорганизмами. Углеводное сырье может быть раствором углеводов или водной суспензией. Под выражением “водная среда” в данном документе подразумевается среда, в основном являющаяся водой, например более 80% воды, предпочтительно более 90% воды, еще более предпочтительно более 95% воды. Водная среда может состоять из более 99% воды.

Способ заключается в контакте раствора углевода или суспензии со стабилизированным диоксидом хлора при pH по меньшей мере 2,6, предпочтительно по меньшей мере 3, предпочтительно по меньшей мере pH 3,5, предпочтительно по меньшей мере pH 4, предпочтительно по меньшей мере pH 4,5 и предпочтительно не более pH 9. Концентрация углевода составляет по меньшей мере 1% в сырье, предпочтительно от 1 до 70% от общего веса сырья, а количество добавленного стабилизированного диоксида хлора составляет от 10 до 10000 мг/кг как содержание доступного диоксида хлора от общего веса сырья.

Под выражениями “сохранять” и “сохранение”, как используется в данном документе, к углеводному сырью подразумевается подавление реакции или расходования углевода такими загрязняющими микроорганизмами как бактерии. Сохранение обеспечивает стабильное углеводное сырье, которое не подвергается существенному изменению в результате реакции или расходованию в результате микробиологического метаболизма в течение по меньшей мере одного месяца. Первым критерием изменения является микробная популяция сохраненного сырья. При надлежащем хранении углеводное сырье не подвергается ее увеличению более чем  $1 \log_{10}$  КОЕ/мл или  $1 \log_{10}$  КОЕ/г. Обычно микробная популяция выражается как  $\log_{10}$  КОЕ/мл для жидкого сырья и как  $\log_{10}$  КОЕ/г для твердого/полутвердого сырья. Выражение  $\log_{10}$  КОЕ/г также может быть использовано для жидкого сырья.

Вторым критерием изменения является то, что pH сохраненного сырья не должен меняться на более чем 0,5 единицы pH. Поскольку измерение pH обеспечивает более быструю оценку эффекта сохранности, чем измерение микробной популяции, специалисту в данной области будет понятно, что изменение pH может быть недостаточным при учете всех факторов для контроля сохранения (т.е. отсутствие изменения) углеводного сырья. Например, для буферизированного сырья или сырья при pH менее приблизительно pH 6 существенное микробное загрязнение может происходить до

изменений pH на 0,5.

Кроме того, специалисту в данной области будет понятно, что могут быть использованы другие критерии изменения. Например, на изменение может указывать присутствие таких нежелательных соединений, как продукт метаболизма углеводного сырья. Методы определения могут включать спектрофотометрию, хроматографию и другие методы, известные специалисту в данной области. Следующие критерии могут включать такие физические изменения в углеводном сырье, как относительная плотность или вязкость.

Данное изобретение относится к способу сохранения углеводного сырья при единичных операциях. Под "единичными операциями" подразумевается любая операция, включающая углеводное сырье, и, в частности, хранение, перевозка, предварительная обработка и получение. "Предварительная обработка" означает в данном документе любую стадию, осуществляемую непосредственно перед использованием сырья. Предварительная обработка непосредственно перед использованием сырья включает перемещение сырья из одной емкости, например хранилища, во вторую емкость, например ферментационный резервуар, для переработки биомассы с получением этанола. Производственные операции включают способы получения углеводного сырья, которое является неферментированным продуктом, таким как сахар. Сохранение предотвращает или замедляет ухудшение качества, связанное с микробной активностью в сырье. Сырье используется для последующего превращения в конечные продукты путем ферментации или подобными способами или включается в другие процессы, применяемые для получения целевых продуктов.

#### Углеводное сырье

"Углевод", как используется в данном документе, представляет собой моносахарид, дисахарид, олигосахарид или полисахарид. Углеводы, как используется в данном документе, могут быть моносахаридами, дисахаридами, олигосахаридами, полисахаридами или смесями двух или более из них. Примеры моносахаридов, дисахаридов, олигосахаридов и полисахаридов известны специалисту в данной области. Углевод предпочтительно является углеводом природного происхождения. Углевод природного происхождения необязательно может иметь восстанавливающую концевую группу. Такие углеводы легче метаболизируются и поэтому более склонны к ухудшению качества микроорганизмами.

В зависимости от конкретного применения углеводное сырье, включающее немоносахаридные углеводы, может требовать такой предварительной обработки, как гидролиз, для превращения немоносахаридных углеводов в способные к брожению сахара. Например, углеводное сырье может включать кукурузный крахмал в воде. Кукурузный крахмал является полисахаридом, состоящим из отдельных единиц глюкозы, которые связаны вместе. Кукурузный крахмал может быть предварительно обработан для превращения полисахарида последовательно в меньшие (более короткие) полисахариды (декстрины) и в глюкозу (моносахарид), например с использованием ферментов.

Углеводное сырье также может быть в форме мягкой массы. Выражение "мягкая масса", как используется в данном документе, означает композицию, включающую способный к брожению сахар или предшественник способного к брожению сахара. В общем, мягкая масса включает любую смесь зерна или другого углевода в воде, которая используется для получения этанола. Мягкая масса может относиться к содержащим углевод композициям, используемым на любой стадии ферментации этанола, от смешивания, которое происходит перед варкой и/или осахариванием предшественника

способного к брожению сахара, до композиции, полученной по окончании ферментации. Кроме того, мягкая масса раскрыта в Jacques, K.A., Lyons, T.P., Kelsall, D.R., "The Alcohol Textbook", 2003, 426-424, Nottingham University Press, UK.

Углеводное сырье может быть раствором или суспензией способного к брожению сахара. Более конкретно, способный к брожению сахар, как используется в данном документе, является раствором или суспензией углевода, который получен в основном из любого растительного источника, включающего сахар, крахмал и/или целлюлозу. А именно крахмал и/или целлюлоза могут быть превращены способами, известными в данной области, например с использованием ферментов, в способный к брожению сахар. Способный к брожению сахар может быть получен из одного или более любых продуктов на основе зерна, таких как кукуруза, древесной щепы, пшеничной соломы, кукурузной соломы, проса прутьевидного. Способный к брожению сахар альтернативно может быть получен из мило, ячменя, проса, сорго, сахарного тростника, сахарной свеклы, мелассы, сыворотки, картофеля, водоросли, морской водоросли и других биологических источников. Специалисту в данной области известны способы превращения сырья из растительных источников в способный к брожению сахар. Удобно способный к брожению сахар получается из кукурузы с использованием способа либо мокрого помола, либо сухого помола для получения крахмала. Разжиженный крахмал подвергается осахариванию, при котором крахмал контактирует с ферментами для превращения крахмала в глюкозу, таким образом образуется способный к брожению сахар.

Углеводное сырье может включать до 100% по весу углеводов. Обычно углеводное сырье включает от 1% до 70% углеводов от общего веса сырья, предпочтительно от 2 до 40%. Количество и композиция углеводов в сырье может варьировать в зависимости от предназначенного конечного применения. Например, жидкий кукурузный экстракт, который является раствором углевода, полученным путем мокрого помола, может включать 16,5% углеводов. В способе мокрого помола кукуруза вымачивается или замачивается и затем разделяется на различные компоненты. Жидкий кукурузный экстракт является водной жидкостью, полученной после вымачивания кукурузы в течение длительного периода, во время которого способные к брожению легко растворимые компоненты экстрагируются из твердых частиц кукурузы в замочную воду. Крахмальный компонент из способа мокрого помола может включать до 40% по весу углеводов.

Углеводное сырье может включать другие компоненты, обычно функционирующие как добавки к растворам и/или суспензиям. Например, углеводное сырье может включать ферменты, поверхностно-активные вещества, диспергаторы, противовспенивающие композиции, минералы, следовые элементы и комбинации двух или более из них. Эти компоненты и другие компоненты, которые действуют как добавки, хорошо известны специалисту в данной области. Углеводное сырье может включать до 70% по весу от общего веса сырья других компонентов, предпочтительно углеводное сырье включает от 2 до 40% по весу, более предпочтительно от 2 до 35% по весу одного или более из компонентов.

### Микроорганизмы

Микроорганизмы в контексте данного изобретения делятся на две категории - желательные и нежелательные. Желательные микроорганизмы, такие как *Saccharomyces cerevisiae*, используются в ферментации глюкозы в этанол и диоксид углерода. Другие желательные микроорганизмы применяются в других способах переработки биомассы. Желательные микроорганизмы обычно отсутствуют в углеводном сырье.

Нежелательные микроорганизмы включают бактерии, грибы, дикие дрожжи или загрязняющие дрожжи и другие микроорганизмы, способные метаболизировать компоненты углеводного сырья для поддержания жизнеспособности микроорганизма. Нежелательные микроорганизмы загрязняют углеводное сырье, используют сырье как питательную среду, размножаются, истощая его.

Нежелательные микроорганизмы, такие как загрязняющие дрожжи, часто выявляются в продукции как технического, так и пищевого этанола и могут вызывать серьезные случаи загрязнения, приводящие в результате к снижению эффективности его производства. Эти нежелательные микроорганизмы подают в способ через сырье, техническую воду, воздух, операторов и многочисленные другие источники.

Нежелательные микроорганизмы, такие как бактерии, производят такие продукты, как уксусная и молочная кислоты, из глюкозного сырья, не только потребляя сырье, но и мешая превращению сырья в требуемые продукты, а также негативно влияя на желательные микроорганизмы в способе переработки биомассы. Например, уксусная и молочная кислоты негативно влияют на степень превращения глюкозы в этанол *Saccharomyces cerevisiae*. В данном изобретении используется SCD для контроля над нежелательными микроорганизмами, например, при хранении и перевозке, консервирования сырья.

Углеводное сырье является богатым источником питательных веществ, которые могут поддерживать рост различных микроорганизмов. Углеводное сырье преимущественно служит и питательным веществом для желательного микроорганизма, такого как дрожжи, в ферментации, и исходными материалами для получения этанола. Однако нежелательные микроорганизмы пролиферируют в питательном углеводном сырье при хранении и перевозке до ферментации или иного конечного применения, ухудшая качество сырья. Более того, нежелательные микроорганизмы, обычно связанные с ухудшением качества углеводного сырья, могут естественно встречаться в любом исходном материале для переработки биомассы или могут быть введены из внешних источников, таких как технологическое оборудование, примеси в самом сырье и прочее.

Под ухудшением качества углеводного сырья подразумевается химическое превращение углевода в углеводном сырье в результате реакции углевода или его расхода нежелательным микроорганизмом. Например, нежелательные микроорганизмы могут потреблять углеводы в качестве питательной среды для метаболизма микроорганизмов для их пролиферации. Альтернативно, нежелательные микроорганизмы могут реагировать с углеводами и превращать их в другое химическое соединение, не метаболизируя углевод. Например, *Leuconostoc mesenteroides*, бактерия, которая встречается в экстрагированном соке сахарного тростника, превращает сахарозу, дисахарид, в декстран, полисахарид. Превращение сахарозы в декстран обеспечивает более низкий выход, когда сок сахарного тростника используют для производства кристаллического сахара. Аналогично, продуктивность ферментации более низкая, когда сок сахарного тростника, загрязненный *L. mesenteroides*, используют для ферментации этанола.

#### Стабилизированный диоксид хлора

Выражение "стабилизированный диоксид хлора", иначе названное в данном документе "SCD", означает один или более содержащих диоксид хлора комплексов оксихлора, одно или более содержащих хлорит соединений, один или более других объектов, способных образовывать диоксид хлора при воздействии кислотой, и их комбинации. Таким образом, стабилизированный диоксид хлора включает по меньшей мере один



из содержащего диоксид хлора комплекса оксихлора, содержащего хлорит или объект, способный образовывать диоксид хлора в жидкой среде при взаимодействии с кислотой. SCD является коммерчески доступным.

5 Среди предпочтительных вариантов комплекс оксихлора, содержащий диоксид хлора, выбирается из группы, включающей комплекс диоксида хлора с карбонатом, комплекс диоксида хлора с бикарбонатом и их смеси. Примеры содержащих хлорит соединений включают хлориты металлов и, в частности, хлориты щелочных металлов и щелочноземельных металлов. Конкретным примером содержащего хлорит соединения, пригодного в качестве предшественника диоксида хлора, является натрия хлорит, 10 который может быть использован в качестве технического натрия хлорита.

SCD предпочтительно является водным раствором хлорита щелочного металла и щелочноземельного металла, обычно натрия хлоритом ( $\text{NaClO}_2$ ). Натрия хлорит в растворе обычно стабилен при pH выше 7, но высвобождает активный диоксид хлора ( $\text{ClO}_2$ ), когда pH ниже нейтрального (pH 7). Степень активации SCD, т.е. степень, при 15 которой активный  $\text{ClO}_2$  высвобождается из стабильной формы, повышается при понижении pH.

Точный химический состав многих композиций SCD и, в частности, содержащих диоксид хлора комплексов оксихлора не полностью известен. Производство или 20 получение определенных предшественников диоксида хлора описано Gordon в патенте США 3585147 и Lovely в патенте США 3591515. Конкретные примеры коммерчески доступного и применимого стабилизированного диоксида хлора включают, например, ANTHIUM DIOXIDE и FERASURE, доступные от E.I. Du Pont de Nemours and Company, Уилмингтон, Делавер; OXINE и PUROGENE, доступные от Bio-Cide International, Inc., 25 Норман, Оклахома.

SCD может быть представлен в виде раствора одного или более содержащих диоксид хлора комплексов оксихлора, одного или более содержащих хлорит соединений, одного или более других объектов, способных образовывать диоксид хлора при взаимодействии с кислотой, и их комбинаций. Раствор обеспечивает SCD в жидкой среде при 30 предварительно определенной концентрации активных ингредиентов как доступный диоксид хлора ( $\text{ClO}_2$ ). Предпочтительно жидкая среда включает достаточно SCD для наличия концентрации доступного диоксида хлора в диапазоне от приблизительно 0,002% до приблизительно 40% по весу, предпочтительно в диапазоне от приблизительно 2% до приблизительно 25% по весу, более предпочтительно в диапазоне от 35 приблизительно 5% до приблизительно 15% по весу, от общего веса жидкой среды, включающей содержащие диоксид хлора комплексы оксихлора, содержащие хлорит соединения, другие объекты, способные образовывать диоксид хлора при взаимодействии кислотой, и их комбинации.

SCD может быть представлен в виде твердого материала, такого как композиция, 40 включающая порошок хлорита щелочного или щелочноземельного металла, инертные ингредиенты и необязательно такой сухой активатор, как сухая кислота.

SCD также может быть представлена в виде смеси (или взвеси), включающая насыщенный раствор порошка хлорита щелочного или щелочноземельного металла и дополнительного твердого порошка хлорита щелочного или щелочноземельного 45 металла. Такие взвеси обеспечивают жидкий SCD с более высоким уровнем активного ингредиента, чем доступные в форме раствора.

Данное изобретение далее описывается в отношении SCD как стабилизированный хлорит щелочного металла, более конкретно натрия хлорит ( $\text{NaClO}_2$ ). Обычно натрия

хлорит используют как водный раствор, включающий 5-22% по весу от веса раствора натрия хлорита в воде. Далее концентрации SCD описываются в отношении концентрации доступного диоксида хлора, когда хлорит стехиометрически превращается в диоксид хлора, "доступный  $\text{ClO}_2$ ". Содержание потенциального диоксида хлора в 1 г натрия хлорит составляет 0,597 г. Растворы натрия хлорита, включающие 5-22% по весу натрия хлорита, таким образом содержат 2,98-13,13% доступного диоксида хлора. Образование  $\text{ClO}_2$  проиллюстрировано следующим уравнением (1):



где одна молекула  $\text{NaClO}_2$  дает 0,8 молекулы  $\text{ClO}_2$ .

Данное изобретение включает применение SCD в качестве консерванта в углеводном сырье для подавления реакции углевода с или расходования углевода микроорганизмами. Такое загрязнение может иметь место в источнике получения углеводного сырья или при хранении, перевозке или другого перемещения до начала его использования. Углеводное сырье, сохраненное таким образом, поддерживает содержание углеводов для такого применения, как переработка биомассы или другого потребления после хранения и перевозки.

SCD добавляется в раствор углевода в диапазоне от 10 мг/кг до 10000 мг/кг как доступный диоксид хлора, предпочтительно в диапазоне от 10 мг/кг до 5000 мг/кг, более предпочтительно от 50 мг/кг до 1000 мг/кг и наиболее предпочтительно 100-500 мг/кг, как доступный диоксид хлора. SCD эффективен, когда pH раствора углевода обычно варьирует от 2,6 до 9.

#### Ограничения pH

SCD, как определяется в данном документе, включает по меньшей мере один из содержащего диоксид хлора комплекс оксихлора, содержащего хлорит соединения или объекта, способного образовывать диоксид хлора в жидкой среде при воздействии кислотой. Когда SCD является водным раствором натрия хлорита, SCD имеет pH более pH 7. Растворы натрия хлорита высвобождают активный диоксид хлора ( $\text{ClO}_2$ ) при снижении pH. Степень высвобождения диоксида хлора из водных растворов SCD увеличивается при снижении pH от приблизительно 5-6 до 2,6. Эта степень может варьироваться в зависимости от ряда факторов. Например, различные предшественники  $\text{ClO}_2$  могут высвобождать  $\text{ClO}_2$  с различными степенями при одинаковом или подобном pH. Другие факторы, такие как буферная способность раствора, может влиять на степень высвобождения  $\text{ClO}_2$  из растворов SCD. Эти факторы хорошо известны специалисту в данной области.

pH сырья обычно составляет по меньшей мере pH 2,6. pH предпочтительно варьируется от pH 3 до pH 9, предпочтительно от 3,5 до 8, более предпочтительно от 4 до 7 и наиболее предпочтительно от 4,5 до 7. Если необходимо, pH может быть повышено добавлением такого основания, как гидроксид щелочного или щелочноземельного металла, или карбоната в требуемом диапазоне. Подобным образом, при необходимости, pH может быть понижено добавлением такой кислоты, как лимонная, хлористоводородная или фосфорная, в требуемом диапазоне. Например, pH кукурузной мягкой массы обычно регулируется от 4,5 до 5,8 для обеспечения эффективности ферментов альфа-амилазы и глюко-амилазы соответственно.

Данное изобретение далее описывается в отношении SCD, являющегося стабилизированным хлоритом щелочного металла, более конкретно, наиболее

распространенным и коммерчески доступным из хлоритов щелочных металлов натрия хлоритом ( $\text{NaClO}_2$ ). Под стабилизированным хлоритом щелочного металла подразумевается буферизированный раствор хлорита при pH выше 7, предпочтительно pH 9-10. Раствор обычно включает 5-22% вес/вес натрия хлорита в воде, хотя концентрация натрия хлорит также может быть выше или ниже. Далее концентрации SCD описываются в отношении концентрации диоксида хлора, доступного как  $\text{ClO}_2$ , когда хлорит стехиометрически превращается в диоксид хлора.

#### Способ

Данное изобретение представляет способ сохранения углеводного сырья, заключающийся в контакте углеводного сырья со стабилизированным диоксидом хлора ("SCD"). SCD включает хлориты щелочных и щелочноземельных металлов. Стабилизированный диоксид хлора включает по меньшей мере один из содержащего диоксид хлора комплекса оксихлора, содержащего хлорит соединения или объекта, способного образовывать диоксид хлора в жидкой среде при воздействии кислотой. SCD добавляется в количестве для обеспечения содержания 10-10000 мг/кг общего доступного диоксида хлора от общего веса сырья. Предпочтительно SCD добавляется в количестве для обеспечения содержания 10-5000 мг/кг общего доступного диоксида хлора, более предпочтительно от 50 мг/кг до 1000 мг/кг и наиболее предпочтительно 100-500 мг/кг как доступного диоксида хлора.

В способе данного изобретения SCD подвергается контакту с углеводным сырьем, таким как мягкая масса, в эффективном количестве для защиты углевода от роста нежелательных микроорганизмов и, таким образом, для предотвращения порчи сырья. Ухудшение качества сырья может быть определено по присутствию штаммов загрязняющих микроорганизмов или по концентрации таких метаболитов, как органические кислоты, которые обычно указывают на непредусмотренную и нежелательную активность микробов в сырье. Таким образом в значительной степени предотвращается пролиферация микроорганизмов в сырье при хранении или перевозке после добавления SCD.

Неожиданно было установлено, что углеводное сырье, обработанное согласно данному изобретению, остается стабильным в течение по меньшей мере одного месяца. Под "стабильным" в данном документе подразумевается, что добавление SCD сохраняет углеводное сырье, где "сохранение" определяется далее как предотвращение реакции или расхода углевода загрязняющими микроорганизмами. Стабильное углеводное сырье не подвергается увеличению штамма микроорганизма в сырье более чем  $1 \log_{10}$  КОЕ/мл или  $1 \log_{10}$  КОЕ/г. КОЕ, аббревиатура колониеобразующей единицы, является критерием микробной популяции в сырье. КОЕ применяется для определения числа видимых микробных клеток в образце на единицу объема или на единицу массы или степени микробного загрязнения в образцах. Вторым критерием изменения является то, что pH сохраненного сырья не должна изменяться на более чем 0,5 единицы pH. Однако, как упоминалось ранее, pH изменение не может быть достаточным показателем для контроля сохранения углеводного сырья во всех случаях.

Углеводное сырье может быть водным раствором или суспензией, включающей моносахариды, дисахариды, олигосахариды, полисахариды или их смеси. Углеводное сырье может включать способный к брожению сахар, в частности, когда сырье предназначено для применения в получении продуктов сахара (таких как столовый сахар или меласса) для потребления человеком или для применения в ферментации топливного этанола. Углеводное сырье может включать до 100% по весу углеводов.

Обычно углеводное сырье включает от 1% до 70% углевода от общего веса сырья, предпочтительно от 2 до 40%.

Неожиданно было установлено, что способ является эффективным в отсутствии добавленной кислоты для образования диоксида хлора. Под "отсутствием добавленной кислоты" подразумевается в данном документе, что кислота не добавляется или применяется другой метод образования диоксида хлора, такой как окисление. Способ обычно осуществляют при pH по меньшей мере 2,6. pH предпочтительно варьируется от pH 3 до pH 9, предпочтительно от 3,5 до 8, более предпочтительно от 4 до 7 и наиболее предпочтительно от 4,5 до 7.

Во втором варианте осуществления SCD подвергается контакту с углеводным сырьем при единичной операции, при которой микроорганизмы начали ухудшать качество сырья. Тогда как расход углевода является необратимым, ухудшение качества может быть прекращено, а сырье сохранено для последующей обработки углеводов. В этом варианте осуществления SCD добавляется в количестве для обеспечения содержания 50-10000 мг/кг общего доступного диоксида хлора от общего веса сырья.

Предпочтительно SCD добавляется в количестве для обеспечения 100-5000 мг/кг, более предпочтительно 100-1000 мг/кг, общего доступного диоксида хлора.

Углеводное сырье, сохраненное с SCD согласно способу данного изобретения, может быть использовано при ферментации и других способах переработки биомассы.

Содержание SCD, концентрация углеводов и pH могут варьироваться в зависимости от параметров конкретных требуемых способов. Эти вариации хорошо известны специалисту в данной области.

В данном изобретении SCD применяется в качестве консерванта для углеводного сырья, чтобы воспрепятствовать активности загрязняющих микроорганизмов и последующему ухудшению качества углеводного сырья. Загрязняющие микроорганизмы включают бактерии, как раскрыто в WO 2007/149450, и загрязняющие дрожжи, как раскрыто в заявке на патент США № 12/467728, поданной 18 мая 2009 г. SCD ингибирует рост определенных бактерий, которые вызывают нежелательное разрушение углеводов, таких как простые сахара, до вредных кислот, а также селективно снижает активность загрязняющих дрожжей.

SCD может быть использован для контроля ухудшения качества углеводного сырья микробами, такого как сырье на основе сахара и целлюлозное сырье. Целлюлозное сырье включает необработанный растительный материал, такой как просо прутьевидное, или сельскохозяйственные побочные продукты, такие как кукурузная солома и жом.

Сырье на основе сахара включает сок сахарного тростника и мелассу.

В определенном способе переработки биомассы pH свежеработанного сока сахарного тростника или мелассы составляет приблизительно 5 (обычно от pH 4,5 до pH 5,5). Сок сахарного тростника содержит 10-15% сахарозы, тогда как меласса содержит до 50% сахарозы. В этом варианте осуществления SCD контактирует с соком сахарного тростника или мелассой. Этот контакт может быть осуществлен непосредственно при получении, который предпочтителен для сдерживания активности микроорганизмов, если продукт предназначен для хранения или перевозки. Сок сахарного тростника и меласса проявляют тенденцию к природным высоким уровням загрязнения микроорганизмами, которые способствуют порче сока сахарного тростника или мелассы. Таким образом, контакт с SCD согласно данному изобретению продлевает применимый срок хранения этих продуктов за счет снижения способности микроорганизмов, вызывающих ухудшение качества, расти и портить сок или мелассу. В зависимости от pH и концентрации сахарозы (углевода) доза 200-1500 мг/кг SCD как

доступного  $\text{ClO}_2$  (например, 335-2510 мг/кг натрия хлорита от общего веса сырья) достаточна для предотвращения роста микроорганизмов в соке сахарного тростника или мелассе.

Таким образом, способ данного изобретения обеспечивает улучшение при хранении и перевозке углеводного сырья за счет сокращения ухудшения качества, улучшая последующие операции, такие как ферментация.

### ПРИМЕРЫ

Примеры демонстрируют сохранение углеводов в присутствии SCD. В этих Примерах SCD является буферизированным раствором натрия хлорита (21% вес/вес), обладающим рН 9,2, доступным от E.I. Du Pont de Nemours and Company, Уилмингтон, Делавер.

#### Пример 1

В этом примере SCD применяли для контроля роста вызывающих ухудшение качества бактерий в мелассе. Мелассу (доступную от B&G Foods, Inc., Розленд, Нью-Джерси, содержание углеводов приблизительно 50%) разбавили 3,1 частями воды для моделирования промышленных условий. Раствор разбавленной мелассы стерилизовали автоклавированием при температуре 121°C. рН стерилизованного раствора составляло 5,32. Затем раствор разделили на 7 отдельных 75-мл образцов в отдельных 125-мл колбах. SCD добавили в каждую колбу для получения диапазона концентраций от 0 до 450 мг/кг от доступного  $\text{ClO}_2$ .

*Lactobacillus brevis* и *Lactobacillus plantarum*, бактерии известные как загрязняющие в получении технического этанола, применяли в этом примере. Бактерии отдельно выращивали в течение ночи в питательной среде deMan Rogosa и Sharpe (MRS) (доступной от Difco Laboratories, Inc., Спаркс, Мэриленд) при 32°C. Затем бактерии смешали вместе и инокулировали в отдельные образцы с обеспечением приблизительно  $10^5$  бактерий/мл (как колониеобразующие единицы/мл, выраженные как "5 log<sub>10</sub> КОЕ/мл").

Измеряли все жизнеспособные бактерии в образцах в данном документе как концентрацию колониеобразующих единиц (КОЕ) на единицу объема (т.е., КОЕ/мл) образца. Существует прямая зависимость между концентрацией бактерий в образцах и измерением КОЕ. Таким образом, при более высокой концентрации бактерий будет более высокое КОЕ и наоборот. По правилу КОЕ преобразовываются математически в логарифмические значения (Log<sub>10</sub>КОЕ) для упрощения сравнения различных обработок.

Способность SCD ингибировать рост *L. brevis* и *L. plantarum* измеряли путем высевания образцов из каждой колбы с 24-часовыми (ч.) интервалами образцы извлекали из каждой колбы, разбавляли с использованием стерильного фосфатно-буферного солевого раствора (доступного от Sigma-Aldrich, Inc., Сент Луис, Миссури) и высевали (0,1 мл) на поверхность чашек MRS. Чашки инкубировали при 32°C и подсчитали полученные в результате колонии, результаты показаны в таблице 1.

Таблица 1 Ответ <i>L. brevis</i> и <i>L. plantarum</i> на обработку стабилизированного диоксида хлора при 32°C в разбавленной мелассе			
Концентрация SCD	Log <sub>10</sub> КОЕ/мл		
	0 час	24 часа	48 часов
0 мг/кг	5,0	8,53	9,3
37,5 мг/кг	5,0	8,79	8,88
75 мг/кг	5,0	2,27	3,38
112,5 мг/кг	5,0	<1	<1
150 мг/кг	5,0	<1	<1
300 мг/кг	5,0	<1	<1

450 мг/кг	5,0	<1	<1
-----------	-----	----	----

Таблица 1 показывает, что начальная концентрация бактерий во всех образцах составляла 5,0 log<sub>10</sub> КОЕ/мл мелассы, как инокулировано и аналогично тому, что может рассматриваться в промышленном масштабе. В контрольном образце, который не был обработан SCD, предусматривался рост бактерий от 5,0 log<sub>10</sub> КОЕ/мл до 8,53 log<sub>10</sub> КОЕ/мл за 24 часа и до 9,3 log<sub>10</sub> КОЕ/мл через 48 часов, в обоих случаях при 32°C. Обработка 37,5 мг/кг SCD ограничила рост до 8,88 log<sub>10</sub> КОЕ/мл через 48 часов. Обработка 75 мг/кг SCD снизила концентрацию бактерий в образце от 5,0 до 2,26 log<sub>10</sub> КОЕ/мл через 24 часа и до 3,38 log<sub>10</sub> КОЕ/мл через 48 часов. При всех концентрациях SCD, выше чем 100 мг/кг, число *L. brevis* и *L. plantarum*, которые могли быть выделены из образцов мелассы, было ниже выявляемого предела. Таблица 1 указывает, что обработка SCD при этих концентрациях способна ингибировать рост бактерий и поэтому снижать порчу бактериями мелассы, предназначенной для применения в качестве сырья.

### Пример 2

Степень высвобождения диоксида хлора (образование) из SCD определяли путем активации с использованием молочной кислоты, кислоты, обычно продуцируемой загрязняющими бактериями, обнаруженными в углеводном сырье. В этом примере 250 мг/л раствора SCD подкислили молочной кислотой для образования ClO<sub>2</sub> при окружающей температуре. Приблизительно 250 мг/л раствора SCD получили путем разбавления исходного раствора FermaSure® XL водой. Затем порции 250 мг/л раствора SCD подкислили до pH от 2,2 до 3,2 с использованием разбавленного раствора <2% молочной кислоты. Применяли pH-метр Accumet 25 (доступный от Fischer Scientific Company, Фэр Лон, Нью-Джерси) для контроля pH раствора в растворе. Затем 250 мг/л подкисленного раствора анализировали по концентрации ClO<sub>2</sub> с использованием спектрофотометра HACH DR/2000 (доступного от Hach Company, Лавлэнд, Колорадо), который калибровали при 400 нм, 420 нм и 445 нм для ClO<sub>2</sub>. Данные спектрофотометра собирали с 10 секундными интервалами с использованием компьютера DELL и программного обеспечения для сбора данных HACH Link 2000 в течение не более 24 часов. Краткое изложение данных образования ClO<sub>2</sub> приведено в таблице 2.

Таблица 2  
Степень высвобождения ClO<sub>2</sub> в зависимости от времени

pH	ClO <sub>2</sub> , полученный после времени (мг/кг)						
	1 час	4 часа	8 часов	12 часов	16 часов	20 часов	24 часа
2,2	21	47	63	78	89	98	105
2,4	8	25	40	52	61	69	72
2,6	5	14	23	32	39	44	48
2,8	3	9	15	20	25	29	32
3,0	2	7	12	17	20	22	25
3,2	1	4	7	9	12	12	НО*

\*Не определяли

Таблица 2 показывает, что высвобождение диоксида хлора из SCD является относительно медленным, даже при низком pH. Таким образом, при контакте SCD с углеводным сырьем при pH по меньшей мере 2,6 без добавления кислоты SCD обладает эффектом консерванта. То есть рост бактерий, который происходит из-за потребления углевода, в значительной степени предотвращается, когда концентрация ClO<sub>2</sub>, как ожидается, будет очень низкой.

## Формула изобретения

1. Способ сохранения углеводного сырья от микроорганизмов, включающий контакт углеводного сырья при единичной операции, где единичная операция представляет собой хранение или перевозку со стабилизированным диоксидом хлора при рН по меньшей мере 2,6, в течение по меньшей мере одного месяца перед использованием углеводного сырья в процессе ферментации, где концентрация углевода составляет по меньшей мере 1% по весу сырья, а количество добавленного стабилизированного диоксида хлора составляет от 10 до 10000 мг/кг, как  $\text{ClO}_2$  от общего веса сырья, причем микробная популяция сохраненного сырья не подвергается ее увеличению более чем  $1 \log_{10}$  КОЕ/мл или  $1 \log_{10}$  КОЕ/г по меньшей мере в течение одного месяца.

2. Способ по п. 1, где концентрация углевода в сырье составляет от 1,0 до 70% от общего веса сырья, а рН составляет по меньшей мере 3.

3. Способ по любому одному из пп. 1 или 2, где углеводным сырьем является раствор или суспензия способного к брожению сахара.

4. Способ по любому одному из пп. 1 или 2, где углеводным сырьем является целлюлозное сырье.

5. Способ по любому одному из пп. 1 или 2, где углеводное сырье дополнительно включает ферменты, поверхностно-активные вещества, диспергаторы, противовспенивающие композиции, минералы, следовые элементы и комбинации двух или более из них.

6. Способ по любому одному из пп. 1 или 2, где стабилизированный диоксид хлора представляет собой одно или более содержащих хлорит соединений.

7. Способ по п. 6, где одно или более содержащих хлорит соединений представляют собой водный раствор хлорита щелочного металла.

8. Способ по п. 7, где хлоритом щелочного металла является натрия хлорит.

9. Способ по п. 8, где рН составляет 3-9.

10. Способ по п. 9, где рН составляет 4-7.

11. Способ по любому одному из пп. 1, 2, 7 или 8, где количество добавленного стабилизированного диоксида хлора составляет от 50 до 1000 мг/кг от общего веса сырья.