



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2015107015/13, 29.01.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
29.01.2015

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
02.02.2014 US 61/934,799;
28.01.2015 US 14/608,183

(45) Опубликовано: 20.10.2016 Бюл. № 29

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 01/32715 A1, 10.05.2001;US 2013/0274456 A1, 17.10.2013;US 2007/0031918 A1, 08.02.2007.. ЕА 0019155 В1, 30.01.2014. RU 2248365 С2, 20.03.2005.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 17.06.2015

(86) Заявка РСТ:
US 2015/013389 (29.01.2015)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2015/116742 (06.08.2015)

Адрес для переписки:
191036, Санкт-Петербург, а/я 24, "НЕВИНПАТ"

(72) Автор(ы):

ХЭМРИК Эдвард Брайан (US)

(73) Патентообладатель(и):

ХЭМРИК Эдвард Брайан (US)

(54) СПОСОБЫ И СИСТЕМЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ САХАРОВ ИЗ БОГАТЫХ УГЛЕВОДАМИ СУБСТРАТОВ

(57) Реферат:

Способ предусматривает обеспечение богатого углеводами субстрата и водного раствора с катализатором гидролиза. Поддерживают давление вакуумирования над субстратом для введения катализатора гидролиза в богатый углеводами субстрат с получением при этом реакционной смеси. Воздействуют на указанную реакционную смесь более высоким давлением газовой фазы на стадии проведения реакции гидролиза, выдерживают реакционную смесь с получением мономеров и/или полимеров сахаров в открытом пространстве внутри волокон субстрата. Воздействуют на реакционную смесь посредством давления газовой фазы, которое

ниже давления реакции гидролиза, для выведения указанных мономеров и/или полимеров сахаров из указанного открытого пространства внутри волокон субстрата в указанный водный раствор и выдерживают. Стадии гидролиза и извлечения повторяют в течение по меньшей мере двух циклов изменения давления для выведения максимального количества мономеров и/или полимеров сахаров из открытого пространства внутри волокон субстрата. Затем выделяют мономеры и/или полимеры сахаров из водного раствора. Причем способ не включает обработку водяным паром или разрушение аммиаком волокон богатого углеводами субстрата.

Изобретение позволяет упростить способ
извлечения сахаров из богатых углеводами

субстратов. 2 н. и 23 з.п. ф-лы, 1 ил., 5 табл., 7 пр.

RU 2600126 C1

RU 2600126 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2015107015/13, 29.01.2015**(24) Effective date for property rights:
29.01.2015

Priority:

(30) Convention priority:
02.02.2014 US 61/934,799;
28.01.2015 US 14/608,183(45) Date of publication: **20.10.2016** Bull. № **29**(85) Commencement of national phase: **17.06.2015**(86) PCT application:
US 2015/013389 (29.01.2015)(87) PCT publication:
WO 2015/116742 (06.08.2015)Mail address:
191036, Sankt-Peterburg, a/ja 24, "NEVINPAT"(72) Inventor(s):
HAMRICK Edward Brian (US)(73) Proprietor(s):
HAMRICK Edward Brian (US)(54) **METHODS AND SYSTEMS FOR PRODUCTION OF SUGARS FROM CARBOHYDRATE-RICH SUBSTRATES**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: method comprises providing carbohydrate-rich substrate and aqueous solution with hydrolysis catalyst. Evacuation pressure is maintained above substrate for introduction of hydrolysis catalyst into carbohydrate-rich substrate to produce reaction mixture. Said reaction mixture is exposed to high pressure of gas phase at step of hydrolysis reaction, reaction mixture is held to produce monomers and/or polymers of sugars in open space inside fibres of substrate. Reaction mixture is exposed to pressure of gas phase, which is lower than pressure of hydrolysis reaction, for removing said monomers and/or polymers

of sugars from said open space inside fibres of substrate into said aqueous solution and held. Steps of hydrolysis and extraction are repeated in at least two cycles of changing pressure to extract maximum amount of monomers and/or polymers of sugars from open space inside fibres of substrate. Monomers and/or polymers of sugars are then separated from aqueous solution. Method does not include treatment with water vapour or breakdown with ammonia of fibres of carbohydrate-rich substrate.

EFFECT: invention simplifies method of extracting sugars from carbohydrate-rich substrates.

25 cl, 1 dwg, 5 tbl, 7 ex

ПРИОРИТЕТНЫЕ ДАННЫЕ

[0001] Данная международная заявка на патент заявляет приоритет предварительной заявки на патент США №61/934,799, поданной 2 февраля 2014 года, и заявки на патент США №14/608,183, поданной 28 января 2015 года, каждая из которых включена в

5 данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0002] Настоящее изобретение в целом относится к способам превращения в сахара лигноцеллюлозной биомассы и родственных субстратов.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

10 [0003] Богатые углеводами материалы, такие как, например, лигноцеллюлозная биомасса природного происхождения (древесина, сельскохозяйственные отходы и т.д.), или продукты, созданные человеком, такие как, например, измельченная мягкая древесина, бумага, картон и т.п., представляют собой важный источник

15 непродовольственных простых сахаров, олигомеров и полимеров для ряда промышленных областей применения. Эти материалы по сути состоят из лигноцеллюлозных волокон, которые, как правило, состоят из целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина. Целлюлоза является полимером глюкозы, гемицеллюлоза является полимером ряда гексозных и пентозных сахаров (главным образом маннозы в мягкой древесине и ксилозы в другой биомассе), и лигнин является ароматическим

20 полимером. Основными гексозными сахарами в биомассе являются глюкоза, манноза и галактоза, а основными пентозными сахарами в биомассе являются ксилоза и арабиноза. Относительное количество целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина различных материалов сильно зависит от определенного типа биомассы.

[0004] Независимо от своего типа биомасса состоит из волокон "склеенных" в пучки. 25 Клеем, главным образом, является лигнин, и он сконцентрирован в сложном межклеточном веществе (внешний слой волокон). Значительная часть затрат при экстрагировании сахаров из биомассы с использованием существующих способов уходит на разделение волокон и устранение (или перемещение) лигнина на наружной

30 поверхности волокон с тем, чтобы целлюлоза и гемицеллюлоза в волокнах были более легкодоступны с наружной поверхности волокон. Например, получение волокнистого сырья (разделенных волокон) из древесной щепы является весьма энергоемким, требуя достаточно предельных рабочих условий, а в случае крафт- или сульфатной целлюлозы к тому же агрессивных химикатов. Аналогично, энергия, требуемая для разделения

35 волокон при обработке водяным паром, разрушении целлюлозы аммиаком или в других методиках предварительной обработки делает нерентабельной обработку биомассы для получения отдельных волокон, поддающихся извлечению сахаров.

[0005] Волокна являются пустыми, обычно заполненными воздухом, как правило с грубым круглым профилем. Пустую часть волокна называют полостью, и она составляет, как правило, приблизительно 36% объема волокна. Плотность клеточной 40 стенки составляет примерно $1,5 \text{ г/см}^3$, и общая плотность большей части волокон (когда принимают во внимание наполненный воздухом центр) составляет примерно $0,96 \text{ г/см}^3$. Поэтому большая часть сухих или частично влажных частиц биомассы как правило плавает на поверхности воды. Воздушные карманы в биомассе нелегко вытесняются

45 водой, и поэтому древесина или соломенные блоки будут плавать в течение недель или месяцев перед тем, как погрузиться.

[0006] Волокна, как правило, составляют от 1 до 4 мм в длину и приблизительно от 20 до 40 микрон в диаметре в зависимости от типа растения, которое их образует. Стенки таких волокон содержат большое количество отверстий, называемых

углублениями или порами, размеры которых варьируются от 30 нм до 1000 нм.

Клеточная стенка составляет приблизительно 20% диаметра волокна, что приводит к тому, что полость характеризуется приблизительно 36% объема обычного волокна.

5 Характеристики биомассы более подробно описаны в Gibson, "The hierarchical structure and mechanics of plant materials," *Journal of The Royal Society Interface* 9 76 (2012): 2749-2766, который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки.

[0007] Внутренняя поверхность клеточной стенки волокон, начиная от полости, имеет наименьшую концентрацию лигнина в волокнах. Распределение целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина в клеточных стенках растений описано более подробно
10 Gierlinger et al., "Raman Imaging of Lignocellulosic Feedstock," in *Cellulose - Biomass Conversion*, edited by van de Ven and Kadla (2013): 159, и в Gierlinger, "Revealing changes in molecular composition of plant cell walls on the micron-level by Raman mapping and vertex component analysis (VCA)," *Frontiers in plant science* 5 (2014), оба из которых включены, таким образом, в данный документ посредством ссылки.

15 [0008] Степень полимеризации (DP) определяют как количество мономерных звеньев в макромолекуле. В случае целлюлозы и гемицеллюлозы мономерными звеньями являются простые сахара. В биомассе снижение степени полимеризации целлюлозы и гемицеллюлозы может быть осуществлено при помощи реагентов, которые инициируют реакции гидролиза и/или окисления. Целлюлозу и гемицеллюлозу, содержащиеся в
20 волокнах, можно гидролизовать до гексозных мономерных сахаров, таких как глюкоза и манноза, и до пентозных мономерных сахаров, таких как ксилоза и арабиноза. Ферменты-целлюлазы, ферменты-гемицеллюлазы, растворы разбавленных кислот, сильные кислоты и сильные основания катализируют данные реакции гидролиза. Гидролиз также можно осуществлять при высоких температурах в отсутствие
25 катализатора. Степень полимеризации целлюлозы и гемицеллюлозы можно также снизить путем окисления при помощи реагента Фентона или реагента, подобного реагенту Фентона, составленного из катализатора на основе переходного металла в растворе с перекисью водорода.

[0009] Сахара обладают значительной промышленной ценностью, и их можно
30 ферментировать в жидкие топлива, такие как, например, этанол, бутанол, или другие химические продукты тонкого органического синтеза, а также их также можно применять в кормах для животных. Полимерные сахара, такие как, например, кристаллы наноцеллюлозы, характеризуются возрастающим значительным промышленным интересом и промышленной ценностью вследствие возможного применения при
35 разработке новых возобновляемых материалов с высокими эксплуатационными характеристиками. Лигнин и мономеры сахаров практически не разрушаются при 90°C при pH 1,0 и выше, но олигомеры и полимеры целлюлозы и гемицеллюлозы гидролизуются произвольно. Аморфные области целлюлозы быстро поддаются гидролизу при pH менее 2 и температуре приблизительно 90°C, как и гемицеллюлоза
40 (которая также является аморфной). Кристаллические области фибрилл целлюлозы практически не расщепляются при pH выше 1,0 и 90°C из-за водородных связей между целлюлозными цепями в кристаллической целлюлозе.

[0010] При осуществлении гидролиза биомассы с получением сахаров одним из
45 встречающихся фундаментальных ограничений является массоперенос сахаров из объема волокон вследствие ограничений простой диффузии. Необходим раствор. Что является особенно необходимым в отрасли биопереработки, так это способ снижения стоимости экстрагирования сахаров из биомассы путем исключения дорогостоящей стадии разделения волокон и перемещения лигнина на наружную поверхность волокон.

Также весьма желательно снизить высокие капитальные и эксплуатационные расходы, связанные с измельчением биомассы и механическим перемешиванием во время гидролиза.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

5 [0011] В некоторых вариантах настоящее изобретение предусматривает способ получения мономеров и/или полимеров сахаров из богатого углеводами субстрата, при этом способ включает стадии:

(a) обеспечения реакционной смеси, содержащей богатый углеводами субстрат, и жидкого раствора, содержащего катализатор гидролиза;

10 (b) воздействия на указанную реакционную смесь посредством давления газовой фазы на стадии проведения реакции гидролиза;

(c) выдерживания реакционной смеси при температуре реакции гидролиза в течение времени реакции гидролиза с получением мономеров и/или полимеров сахаров в открытом пространстве внутри волокон богатого углеводами субстрата;

15 (d) воздействия на реакционную смесь посредством давления газовой фазы на стадии извлечения мономеров и/или полимеров сахаров, которое ниже давления реакции гидролиза, для выведения указанных мономеров и/или полимеров сахаров из открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата и в жидкий раствор;

(e) выдерживания реакционной смеси при температуре извлечения мономеров и/или 20 полимеров сахаров в течение времени извлечения мономеров и/или полимеров сахаров;

(f) повторения стадий (b)-(e) по числу циклов изменения давления и

(g) выделения мономеров и/или полимеров сахаров.

[0012] В некоторых вариантах осуществления богатый углеводами субстрат выбран из группы, состоящей из лигноцеллюлозной биомассы природного происхождения, 25 обработанной лигноцеллюлозной биомассы, волокнистой массы, бумаги, продуктов на основе бумаги, богатых углеводами промышленных отходов и их комбинаций. В определенных вариантах осуществления богатый углеводами субстрат включает лигноцеллюлозную биомассу природного происхождения, выбранную из группы, состоящей из измельченной мягкой древесины, жома сахарного тростника, пшеничной 30 соломы, кукурузной соломы, проса прутьевидного, мискантуса и их комбинаций. В некоторых вариантах осуществления богатый углеводами субстрат включает богатые углеводами промышленные отходы, выбранные из группы, состоящей из пищевых отходов, компонентов городских твердых отходов и их комбинаций.

[0013] Мономеры и/или полимеры сахаров могут включать гексозные сахара в форме 35 мономера, олигомера или полимера, в том числе один или несколько из глюкозы, маннозы, галактозы, О-ацетилгалактоглокоманнана и кристаллов наноцеллюлозы. Мономеры и/или полимеры сахаров могут также включать пентозные сахара в форме мономера, олигомера или полимера, в том числе ксилозу и/или арабинозу.

[0014] В некоторых вариантах осуществления катализатор гидролиза содержит 40 органическую кислоту, минеральную кислоту, перекись водорода или их комбинацию. Например, катализатор гидролиза может содержать серную кислоту в количестве, которое приводит к тому, что жидкий раствор характеризуется концентрацией серной кислоты от приблизительно 10 мМ до приблизительно 200 мМ.

[0015] В этих или других вариантах осуществления катализатор гидролиза может 45 содержать один или несколько реагентов Фентона или реагентов, подобных реагентам Фентона, в том числе перекись водорода и один или множество переходных металлов, таких как металл, выбранный из железа, марганца или их комбинаций. В некоторых вариантах осуществления перекись водорода и переходный(ые) металл(ы) образуют

молярное соотношение от приблизительно 20 до приблизительно 100.

[0016] Катализатор гидролиза в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения содержит один или несколько ферментов, каждый из которых обладает целлюлолитической активностью и/или гемицеллюлолитической активностью. Один или несколько ферментов могут присутствовать в количестве, которое приводит к тому, что загрузка фермента составляет от приблизительно 0,001 г/кг до приблизительно 10 г/кг (масса всех ферментов на массу богатого углеводами субстрата).

[0017] В предпочтительных вариантах осуществления жидкий раствор на стадии (а) получают в виде или обрабатывают с образованием гомогенной смеси. Например, способ может включать смешивание катализатора гидролиза с технологической водой с использованием энергии турбулентности с получением гомогенной смеси. Энергия турбулентности может находиться в диапазоне от приблизительно 0,5 Вт/кг до приблизительно 5 Вт/кг.

[0018] В различных вариантах осуществления температура реакции гидролиза составляет от приблизительно 15°C до приблизительно 95°C, время реакции гидролиза составляет от приблизительно 15 минут до приблизительно 8 часов, и давление реакции гидролиза составляет от приблизительно 50 кПа до приблизительно 150 кПа, например, такое давление, приблизительно равное атмосферному давлению (101,325 кПа).

[0019] Время извлечения мономеров и/или полимеров сахаров может составлять от приблизительно 1 секунды до приблизительно 60 минут. Давление для извлечения мономеров и/или полимеров сахаров может составлять от приблизительно 100% до приблизительно 200% равновесного давления воды при температуре реакции. В вариантах осуществления температура извлечения мономеров и/или полимеров сахаров составляет приблизительно столько же, что и температура реакции.

[0020] Количество циклов изменения давления может колебаться в широких пределах, таких как от 1 до приблизительно 200. В различных вариантах осуществления количество циклов изменения давления составляет 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 или более.

[0021] Некоторые предпочтительные варианты осуществления дополнительно включают перед стадией (а) поддержание давления газа над богатым углеводами субстратом на уровне давления вакуумирования и в течение времени вакуумирования для введения катализатора гидролиза в богатый углеводами субстрат при температуре введения катализатора. В некоторых вариантах осуществления температура введения катализатора меньше температуры кипения воды при давлении вакуумирования или равна ей. Температура введения катализатора может составлять, например, от приблизительно 40°C до приблизительно 90°C. Давление вакуумирования предпочтительно меньше давления для проведения реакции гидролиза. В некоторых вариантах осуществления давление вакуумирования составляет от приблизительно 105% до приблизительно 200% равновесного давления паров воды при температуре введения катализатора. Время вакуумирования может составлять от приблизительно 1 минуты до приблизительно 2 часов.

[0022] Некоторые варианты осуществления способа включают регуляцию pH реакционной смеси на уровне выше или в равновесии с жидким раствором путем изменения состава газовой фазы. Состав газовой фазы можно изменять путем изменения давления и/или состава газовой шапки (например, богатой CO₂ газовой шапки) над жидким раствором.

[0023] В определенных вариантах осуществления катализатор гидролиза содержит органическую кислоту, минеральную кислоту или их комбинацию, и при этом pH

регулируют до приблизительно 2 или менее. В определенных вариантах осуществления катализатор гидролиза содержит один или несколько реагентов Фентона или реагентов, подобных реагентам Фентона, и необязательно одну или несколько минеральных кислот, и при этом рН регулируют от приблизительно 1 до приблизительно 6. В других вариантах осуществления катализатор гидролиза содержит один или несколько ферментов, каждый из которых обладает целлюлолитической активностью и/или гемицеллюлолитической активностью, и при этом рН регулируют от приблизительно 4 до приблизительно 7.

[0024] Варианты настоящего изобретения также предусматривают способ получения мономеров и/или полимеров сахаров из богатого углеводами субстрата, имеющего открытое пространство внутри волокон, при этом способ включает осуществления гидролиза богатого углеводами субстрата в присутствии жидкого раствора, содержащего катализатор гидролиза, и периодическое изменение давления газа от давления проведения реакции гидролиза до давления извлечения мономеров и/или полимеров сахаров, где при давлении проведения реакции гидролиза происходит образование мономеров и/или полимеров сахаров в пространстве полости, и где при давлении извлечения мономеров и/или полимеров сахаров происходит выведение мономеров и/или полимеров сахаров из пространства полости и в жидкий раствор.

[0025] В предпочтительных способах скорость массопереноса мономеров и/или полимеров сахаров, перемещаемых из открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата, превышает скорость диффузии мономеров и/или полимеров сахаров, диффундирующих из открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата. В некоторых вариантах осуществления скорость реакции образования мономеров и/или полимеров сахаров является более высокой, нежели при каком-либо идентичном способе без стадии периодического изменения давления газа.

[0026] Варианты настоящего изобретения также предусматривают систему для получения мономеров и/или полимеров сахаров из богатого углеводами субстрата, имеющего открытое пространство внутри волокон богатого углеводами субстрата, при этом система содержит реактор, выполненный с возможностью осуществления гидролиза богатого углеводами субстрата в присутствии жидкого раствора, содержащего катализатор гидролиза, с образованием мономеров и/или полимеров сахаров в открытом пространстве внутри богатого углеводами субстрата; и блок регуляции давления в функциональной взаимосвязи с реактором, выполненный с возможностью периодического изменения давления газа от давления проведения реакции гидролиза до давления извлечения мономеров и/или полимеров сахаров, где посредством периодического изменения давления происходит выведение мономеров и/или полимеров сахаров из открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата и в жидкий раствор.

[0027] Предпочтительные системы также включают смесительный блок в функциональной взаимосвязи с реактором, выполненный с возможностью смешивания катализатора гидролиза с технологической водой с использованием энергии турбулентности для получения гомогенной смеси. Некоторые системы также включают блок регуляции р в функциональной взаимосвязи с реактором, выполненный с возможностью регуляции рН реакционной смеси на уровне выше или в равновесии с жидким раствором посредством изменения состава газовой фазы.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

[0028] Фиг. 1 представляет собой схематическое изображение экспериментальной установки, используемой в вариантах осуществления и примерах настоящего

изобретения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0029] Способы, процессы и системы согласно настоящему изобретению будут описаны более подробно посредством ссылки на различные неограничивающие варианты осуществления и фигуру(фигуры).

[0030] Данное описание позволит специалисту в данной области получать и применять настоящее изобретение, и в нем описано несколько вариантов осуществления, адаптаций, вариантов, альтернатив и применений настоящего изобретения. Такие и другие варианты осуществления, признаки и преимущества настоящего изобретения станут более очевидными для специалиста в данной области техники при взятии ссылки на последующее подробное описание настоящего изобретения в сочетании с прилагаемыми графическими материалами.

[0031] Используемые в данном описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают ссылки на множественное число, если из контекста явно не следует иное. Если не указано иное, все технические и научные выражения, применяемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно подразумевается специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

[0032] Если не указано иное, все числа, выражающие параметры, условия, результаты и т.п., в описании и формуле изобретения должны пониматься как модифицированные во всех случаях выражением "приблизительно." Соответственно, если не указано иное, числа, изложенные в следующем описании и прикрепленной формуле изобретения, представляют собой приблизительные величины, которые могут варьироваться в зависимости от определенных алгоритмов и вычислений.

[0033] Выражение "содержащий", которое синонимично "включающий", "вмещающий" или "характеризующийся", является охватывающим или открытым и не исключает дополнительные, не перечисленные элементы или стадии способа.

"Содержащий" является технико-юридическим выражением, используемым в патентной лексике, которое означает, что упомянутые заявленные элементы являются обязательными, но другие заявленные элементы могут быть добавлены и все еще будут образовывать конструкцию в пределах объема данной формулы изобретения.

[0034] Используемая в данном документе фраза "состоящий из" исключает любые не указанные в пункте формулы изобретения элемент, стадию или ингредиент. Если фраза "состоит из" (или ее варианты) появляется в отличительной части пункта формулы изобретения, а не сразу после ограничительной части, она ограничивает только элемент, изложенный в этой отличительной части; при этом другие элементы в целом не исключаются из пункта формулы изобретения. Используемая в данном документе фраза "по сути состоящий из" ограничивает объем пункта формулы изобретения до определенных элементов или стадий способа, плюс тех, которые не существенно влияют на основу и новую(новые) характеристику(характеристики) заявленного объекта.

[0035] Что касается выражений "содержащий", "состоящий из" и "по сути состоящий из", если одно из этих трех выражений используется в данном документе, то раскрытый и заявленный в данном случае объект может включать использование одного из оставшихся двух выражений. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления прямо не указанное иным образом любое применение выражения "содержащий" можно заменить выражением "состоящий из" или, в качестве альтернативы, выражением "по сути состоящий из".

[0036] Ни один из вариантов осуществления, описанных в данном документе, не

должен ограничиваться любой теорией или гипотезой, касающимися механизмов реакции, механизмов массопереноса, или описаниями исходных материалов или продуктов.

5 [0037] Некоторые варианты настоящего изобретения основаны на техническом решении вышеуказанной проблемы, которая заключается в том, что при гидролизе биомассы для получения сахаров массоперенос сахаров из общего объема волокон существенно ограничен, если опираться на простую диффузию. В ходе или после каталитического гидролиза, в результате которого получают растворенные сахара в полости волокна (открытое пространство внутри волокон), периодическое изменение 10 давления используют для выкачивания растворенных сахаров в жидкую фазу, таким образом, улучшая общий массоперенос продукта из волокна и улучшая кинетику внутреннего гидролиза. Основные принципы настоящего изобретения показаны в примерах в данном документе.

[0038] Низкий коэффициент диффузии и относительно большая длина полости в 15 волокнах делает неосуществимым применение диффузии для введения реагента в волокна или применение диффузии для выведения высокомолекулярных сахаров из полости в волокнах. В предпочтительных вариантах настоящего изобретения используют введение в вакууме для введения реагента в полости волокон и извлечение в вакууме для экстрагирования сахаров из полости в волокнах. Введение в вакууме и извлечение 20 в вакууме занимает порядка нескольких минут по сравнению с диффузией, которая занимает дни, недели или месяцы.

[0039] Некоторые варианты настоящего изобретения могут в значительной степени снизить стоимость экстрагирования сахаров из биомассы путем исключения 25 дорогостоящей стадии разделения волокон и перемещения лигнина на наружную поверхность волокон. Между тем, гомогенный реагент можно настаивать в условиях вакуума в полости волокон, где находится малое количество лигнина, для предотвращения гидролиза. После гидролиза в полости волокон образуются сахара из целлюлозы и гемицеллюлозы, после чего может быть применен вакуум для получения остаточных пузырьков внутри волокон для выведения сахаров из полости, так что они 30 могут быть выделены.

[0040] Варианты настоящего изобретения предусматривают способ получения мономеров и/или полимеров сахаров из богатого углеводами субстрата, имеющего открытое пространство внутри волокон, при этом способ включает осуществления гидролиза богатого углеводами субстрата в присутствии жидкого раствора, 35 содержащего катализатор гидролиза, и периодическое изменение давления газа от давления проведения реакции гидролиза до давления извлечения мономеров и/или полимеров сахаров, где при давлении для проведения реакции гидролиза происходит образование мономеров и/или полимеров сахаров в открытом пространстве внутри волокон богатого углеводами субстрата, и где при давлении извлечения мономеров и/или 40 или полимеров сахаров происходит выведение мономеров и/или полимеров сахаров из открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата и в жидкий раствор.

[0041] В предпочтительных способах скорость массопереноса мономеров и/или 45 полимеров сахаров, перемещаемых из открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата, превышает скорость диффузии мономеров и/или полимеров сахаров, диффундирующих из открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата. В некоторых вариантах осуществления скорость реакции образования мономеров и/или полимеров сахаров является более высокой, нежели при

каком-либо идентичном способе без стадии периодического изменения давления газа.

[0042] Варианты настоящего изобретения также предусматривают систему для получения мономеров и/или полимеров сахаров из богатого углеводами субстрата, имеющего открытое пространство внутри волокон богатого углеводами субстрата, при этом система содержит реактор, выполненный с возможностью осуществления гидролиза богатого углеводами субстрата в присутствии жидкого раствора, содержащего катализатор гидролиза, с образованием мономеров и/или полимеров сахаров в открытом пространстве внутри волокон богатого углеводами субстрата; и блок регуляции давления в функциональной взаимосвязи с реактором, выполненный с возможностью периодического изменения давления газа от давления проведения реакции гидролиза до давления извлечения мономеров и/или полимеров сахаров, где посредством периодического изменения давления происходит выведение мономеров и/или полимеров сахаров из открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата и в жидкий раствор.

[0043] Предпочтительные системы также включают смесительный блок в функциональной взаимосвязи с реактором, выполненный с возможностью смешивания катализатора гидролиза с технологической водой с использованием энергии турбулентности для получения гомогенной смеси. Некоторые системы также включают блок регуляции рН в функциональной взаимосвязи с реактором, выполненный с возможностью регуляции рН реакционной смеси на уровне выше или в равновесии с жидким раствором посредством изменения состава газовой фазы.

[0044] В некоторых вариантах настоящее изобретение предусматривает способ получения мономеров и/или полимеров сахаров из богатого углеводами субстрата, при этом способ включает стадии:

- (a) обеспечения реакционной смеси, содержащей богатый углеводами субстрат, и жидкого раствора, содержащего катализатор гидролиза;
- (b) воздействия на указанную реакционную смесь посредством давления газовой фазы на стадии проведения реакции гидролиза;
- (c) выдерживания реакционной смеси при температуре реакции гидролиза в течение времени реакции гидролиза с получением мономеров и/или полимеров сахаров в открытом пространстве внутри волокон богатого углеводами субстрата;
- (d) воздействия на реакционную смесь посредством давления газовой фазы на стадии извлечения мономеров и/или полимеров сахаров, которое ниже давления для проведения реакции гидролиза, с выведением мономеров и/или полимеров сахаров из открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата и в жидкий раствор;
- (e) выдерживания реакционной смеси при температуре извлечения мономеров и/или полимеров сахаров в течение времени извлечения мономеров и/или полимеров сахаров;
- (f) повторения стадий (b)-(e) по числу циклов изменения давления и
- (g) выделения мономеров и/или полимеров сахаров.

[0045] В некоторых вариантах осуществления богатый углеводами субстрат выбран из группы, состоящей из лигноцеллюлозной биомассы природного происхождения, обработанной лигноцеллюлозной биомассы, волокнистой массы, бумаги, продуктов на основе бумаги, богатых углеводами промышленных отходов и их комбинаций. В определенных вариантах осуществления богатый углеводами субстрат включает лигноцеллюлозную биомассу природного происхождения, выбранную из группы, состоящей из измельченной мягкой древесины, жома сахарного тростника, пшеничной соломы, кукурузной соломы, проса прутьевидного, мискантуса и их комбинаций. В некоторых вариантах осуществления богатый углеводами субстрат включает богатые

углеводами промышленные отходы, выбранные из группы, состоящей из пищевых отходов, компонентов городских твердых отходов и их комбинаций.

[0046] Биомасса зачастую обладает малой промышленной ценностью или ее отсутствием, поскольку низкая объемная плотность биомассы (от 50 до 150 кг/м³) и способность к гигроскопичности биомассы делают транспортирование нерентабельным. Сахара, полученные из транспортируемой биомассы, намного более привлекательны. Сахара в биомассе обладают высокой промышленной ценностью, но, как правило, не обладают конкурентноспособной ценой по сравнению с сахарами из сахарного тростника, видов сахарной свеклы или кукурузы вследствие высокой стоимости транспортирования биомассы, отделения волокон одно от другого и впоследствии экстрагирования сахаров из волокон. Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения обеспечивают осуществление на практике и рентабельность экстрагирования сахаров из биомассы близкой к источнику биомассы, и впоследствии транспортировку этих экстрагированных сахаров с более высокой объемной плотностью, таким образом, существенно снижая транспортные расходы на кг полученного сахара.

[0047] В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения можно использовать три типа реагентов: реагенты на основе ферментов, реагенты на основе разбавленных кислот и/или реагенты Фентона или реагенты, подобные реагентам Фентона. Любой из этих трех реагентов может быть пригодным для получения мономеров или полимеров сахаров, в том числе кристаллов наноцеллюлозы.

[0048] Реагенты на основе разбавленных кислот представляют собой разбавленные водные растворы кислот (таких как серная или хлористоводородная кислоты или их смеси) с рН, как правило, от 0 до 2, предпочтительно от 0,5 до 1. Как правило, при применении реагентов-разбавленных кислот используют температуры гидролиза равные или выше 90°C. Кислотами могут быть неорганическими или кислотой.

[0049] В некоторых вариантах осуществления катализатор гидролиза содержит органическую кислоту, минеральную кислоту или их комбинацию. Например, катализатор гидролиза может содержать серную кислоту в количестве, которое приводит к тому, что жидкий раствор характеризуется концентрацией серной кислоты от приблизительно 10 мМ до приблизительно 200 мМ.

[0050] В различных вариантах осуществления, в которых используют неорганические кислоты, можно использовать серную кислоту, сернистую кислоту, хлористоводородную кислоту, азотную кислоту, фосфорную кислоту, перекись водорода, фтороводородную кислоту, азотистую кислоту, азотоводородную кислоту, или их комбинации, или соли. В различных вариантах осуществления, в которых используют органические кислоты, можно использовать уксусную кислоту, ацетоуксусную кислоту, лимонную кислоту, муравьиную кислоту, молочную кислоту, аскорбиновую кислоту, бензойную кислоту, пропионовую кислоту, 3-гидроксипропановую кислоту, угольную кислоту, гликолевую кислоту, глиоксильную кислоту, глицериновую кислоту, акриловую кислоту, адипиновую кислоту, малоновую кислоту, метилмалоновую кислоту, янтарную кислоту, яблочную кислоту, винную кислоту, итаконовую кислоту, мезаконовую кислоту, глутаровую кислоту или их комбинации или соли. В тех случаях, когда используют слабую кислоту, такую как уксусная кислота, как правило, будет необходима более высокая концентрация по сравнению с более сильной кислотой, такой как серная кислота.

[0051] В различных вариантах осуществления используют реагенты Фентона или реагенты, подобные реагентам Фентона, составленные из катализатора на основе переходного металла в растворе с перекисью водорода при рН от приблизительно 1 до

6 и температуре от приблизительно 15°C до 95°C. Реагенты, содержащие перекись водорода, которая вступает в реакцию с катализаторами на основе переходных металлов, для деполимеризации целлюлозы и/или гемицеллюлозы в данном документе называются "реагентами Фентона", когда основаны на Fe, и "реагентами, подобными реагентам Фентона," когда основаны на катализаторе на основе другого переходного металла. Катализатор на основе переходного металла чаще всего представляет собой Fe(II) или Mn(II), но можно использовать и другие, такие как Co, Ni, Mo, Cu, Zn и т.д. Деполимеризация целлюлозы и гемицеллюлозы в данном документе называется гидролизом, в независимости от того вызывается ли деполимеризация гидролизом гликозидных связей или разрывом связей с использованием реагента Фентона или реагента, подобного реагенту Фентона.

[0052] В некоторых вариантах осуществления катализатор гидролиза может содержать один или несколько реагентов Фентона или реагентов, подобных реагентам Фентона, в том числе перекись водорода и металл, выбранный из железа, марганца или их комбинаций. Реагенты Фентона или реагенты, подобные реагентам Фентона, могут также предусматриваться наряду с кислотой в качестве части реагента. Реагенты Фентона могут включать растворы $\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{FeCl}_2/\text{H}_2\text{O}_2$ или $\text{FeCl}_2/\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}_2$, и/или реагенты, подобные реагентам Фентона, могут включать сложные составы на основе Mn вместо Fe. В некоторых вариантах осуществления перекись водорода и металл образуют молярное отношение ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{металл}$) от приблизительно 20 до приблизительно 100, такое как приблизительно 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90. Как правило, реагенты Фентона или реагенты, подобные реагентам Фентона, корректируют до pH от 1 до 6 при помощи минеральной кислоты, такой как H_2SO_4 или HCl. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления катализатор гидролиза содержит один или несколько реагентов Фентона или реагентов, подобных реагентам Фентона, в комбинации с одной или несколькими минеральными кислотами. Реагенты Фентона или реагенты, подобные реагентам Фентона, эффективны для гидролиза при широком диапазоне температур в диапазоне от приблизительно 15°C до приблизительно 95°C, таких как приблизительно 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, 80°C, 85°C или 90°C. Оптимальные составы и рабочие условия этих реагентов для гидролиза различных типов богатого углеводами материала, такого как, без исключения, лигноцеллюлозная биомасса, известны специалисту в данной области техники.

[0053] Описание применения реагентов Фентона для деполимеризации целлюлозы в диапазоне pH от 3 до 5 и при температуре до 100°C представлено в Heijnesson-Hultén, "Method of preparing microfibrillar polysaccharide", патенте США №7700764, выданном 20 апреля 2010 года, которые, таким образом, включены в данный документ посредством ссылки. Описание кинетики реакции Фентона в зависимости от pH и температуры представлено в Khamaruddin et al., "Using Fenton's reagents for the degradation of diisopropanolamine: effect of temperature and pH," International conference on environment and industrial innovation, Singapore, 2011, который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки. Описание эффективности применения реагентов Фентона при высоких температурах и pH 1,7 представлено в de Tuesta et al., "Application of high-temperature Fenton oxidation for the treatment of sulfonation plant wastewater," Journal of Chemical Technology and Biotechnology (2014), который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки.

[0054] Катализатор гидролиза в некоторых вариантах осуществления содержит

перекись водорода без необходимости наличия или добавления переходного металла. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение только перекиси водорода без добавления какого-либо катализатора на основе переходного металла. Например, катализаторы на основе переходных металлов могут поглощаться внутри
5 полости волокон на стадии предварительной обработки, а затем вводят только перекись водорода в качестве реагента для осуществления реакции с катализаторами на основе переходных металлов, которые уже были поглощены внутри полости волокон на стадии предварительной обработки. Также будет понятно, что переходные металлы
10 встречаются в естественных условиях в биомассе, и эти естественные переходные металлы могут быть эффективными при образовании *in situ* реагентов Фентона или реагентов, подобных реагентам Фентона. В некоторых вариантах осуществления биомасса может подвергаться разрушению только перекисью водорода при подходящих условиях.

[0055] Катализатор гидролиза в некоторых вариантах осуществления настоящего
15 изобретения содержит один или несколько ферментов, каждый из которых обладает целлюлолитической активностью и/или гемицеллюлолитической активностью. Реагенты на основе ферментов предпочтительно представляют собой комбинации ферментов с целлюлолитической активностью (главным образом ферменты-целлюлазы и
20 гемицеллюлазы) с рабочим рН предпочтительно от 4,5 до 6,5 и температурами гидролиза, как правило, от 40°C до 50°C. Концентрацию фермента можно изменять от миллиграмм до грамм фермента на кг субстрата, в зависимости от типа фермента и рабочих условий. Один или несколько ферментов могут присутствовать в количестве, которое приводит к тому, что загрузка фермента составляет от приблизительно 0,001 г/кг до
25 приблизительно 10 г/кг (масса всех ферментов на массу богатого углеводами субстрата).

[0056] В предпочтительных вариантах осуществления жидкий раствор на стадии (а)
30 получают в виде или обрабатывают с образованием гомогенной смеси. Например, способ может включать смешивание катализатора гидролиза с технологической водой с использованием энергии турбулентности с получением гомогенной смеси. Энергия турбулентности может находиться в диапазоне от приблизительно 0,5 Вт/кг до
35 приблизительно 10 Вт/кг, например, составлять приблизительно 5 Вт/кг.

[0057] В некоторых вариантах осуществления концентрированные реагенты сначала
гомогенизируют с технологической водой с использованием энергии турбулентности для получения гомогенного реагента. Применяют соответствующую энергию
40 турбулентности так, что масштаб длины Колмогорова составляет на порядок меньше диаметра полости волокон (например, приблизительно 20 микрон). Реагентами может быть любое вещество с достаточной целлюлолитической и гемицеллюлолитической активностью, природным или искусственным, биологического или химического происхождения, чистым или в комбинациях, таких как органические и минеральные кислоты (например, серная кислота), ферменты (например, целлюлазы и гемицеллюлазы),
45 реагенты Фентона или реагенты, подобные реагентам Фентона, чистая перекись водорода, или любое другое подходящее вещество.

[0058] В некоторых способах сначала гомогенизируют один или несколько выбранных
реагентов с технологической водой с использованием энергии турбулентности для смешивания с получением гомогенного реагента. При помощи масштаба длины
45 Колмогорова и с учетом того, что кинематическая вязкость воды при 20°C составляет приблизительно 10^{-6} м²/с, энергия, требуемая для смешивания реагентов и технологической воды, для 20-микронного масштаба составляет приблизительно 6,25 Вт/кг. Это очень умеренное количество энергии для смешивания по сравнению с

количеством механической энергии для смешивания, обычно применяемым при гидролизе биомассы традиционными способами. При более высоких температурах требуется даже меньше энергии для смешивания.

5 [0059] Специалисту в данной области будет понятно, что существует много простых смесителей, в которых возможно смешивание с использованием этого вида энергии. Одним таким простым смесителем является пластиковая трубка диаметром 25 мм и длиной 8 метров с шероховатостью трубопровода 0,0014, подающая катализатор при величинах давления от атмосферного (100 кПа) до вакуума 20 кПа с помощью вакуумного насоса с подачей 2,8 литра/с (6 CFM) при поддержании вакуума во время введения катализатора. Мощность, распределенная в трубке вследствие перепада 10 давления, составляет 226,4 Вт. Общее количество жидкости в трубке составляет 4,05 кг, так что мощность, распределенная на кг, составляет приблизительно 56 Вт/кг, что является значительно большей мощностью, чем необходима для смешивания при 20-микронном масштабе (иллюстративный расход является достаточным для введения 15 катализатора 18 м³ за 1,8 часа).

[0060] Некоторые предпочтительные варианты осуществления дополнительно включают перед стадией (а) поддержание давления газа над богатым углеводами субстратом на уровне давления вакуумирования и в течение времени вакуумирования для введения катализатора гидролиза в богатый углеводами субстрат при температуре 20 введения катализатора. В некоторых вариантах осуществления температура введения катализатора меньше температуры кипения воды при давлении вакуумирования или равна ей. Температура введения катализатора может составлять, например, от приблизительно 40°C до приблизительно 90°C. Давление вакуумирования предпочтительно меньше давления для проведения реакции. В некоторых вариантах 25 осуществления давление вакуумирования составляет от приблизительно 105% до приблизительно 200% равновесного давления воды при температуре введения катализатора. Время вакуумирования может составлять от приблизительно 1 минуты до приблизительно 2 часов.

30 [0061] В тех случаях, когда вакуум применяют по отношению к исходной биомассе, гомогенизированный реагент вводят в биомассу в условиях вакуума. Вследствие того, что это введение катализатора (в некоторых вариантах реализации) осуществляют в условиях вакуума, реагенты быстро и равномерно распределяются внутри волокон и биомассы. При снятии вакуума реагенты выходят в полость волокон.

35 [0062] Температура гомогенного реагента должна быть достаточно низкой для того, чтобы вода в гомогенном реагенте не закипала при давлении введения катализатора, поскольку кипение приводит к быстрому высвобождению пара в виде больших пузырьков. Также может быть важно, чтобы температуру поддерживали ниже равновесной температуры при некотором давлении. Поскольку вода обычно является 40 основной составляющей гомогенного реагента, результаты, относящиеся к равновесному состоянию воды, можно использовать для определения рабочей температуры при данном давлении и *vice versa*. Например, если температура введения катализатора гомогенного реагента составляет приблизительно 55°C, то давление введения катализатора должно составлять более приблизительно 20 кПа. Следствием этого является то, что при использовании гидролиза с помощью разбавленных кислот при 45 90°C температура введения катализатора гомогенного реагента (например, раствор серной кислоты) будет менее приблизительно 55°C, если давление для введения катализатора составляет приблизительно 20 кПа, и температуру необходимо поднять до приблизительно 90°C после введения катализатора гомогенного реагента.

[0063] В различных вариантах осуществления температура реакции гидролиза составляет от приблизительно 15°C до приблизительно 95°C, такую как приблизительно 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, 55°C, 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, 80°C, 85°C или 90°C. В различных вариантах осуществления время реакции гидролиза составляет от
5 приблизительно 15 минут до приблизительно 8 часов, такое как приблизительно 30 минут или 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 часов. В различных вариантах осуществления давление проведения реакции гидролиза составляет от приблизительно 50 кПа до приблизительно 150 кПа, такое как приблизительно атмосферное давление (101,325 кПа) или приблизительно 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130 или 140 кПа.

10 [0064] Время извлечения мономеров и/или полимеров сахаров может составлять от приблизительно 1 секунды до приблизительно 60 минут, такое как приблизительно 10, 30 или 60 секунд, или приблизительно 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 или 55 минут. Давление извлечения мономеров и/или полимеров сахаров может составлять от приблизительно 100% до приблизительно 200% равновесного давления воды при
15 температуре реакции. В вариантах осуществления температура извлечения мономеров и/или полимеров сахаров является приблизительно той же, что и температура реакции гидролиза, но температура извлечения мономеров и/или полимеров сахаров может быть ниже или выше температуры реакции гидролиза.

[0065] Количество циклов изменения давления может колебаться в широких пределах,
20 таких как от 1 до приблизительно 200. В различных вариантах осуществления количество циклов изменения давления составляет 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 или более. Периодическое изменение давления можно осуществлять периодически, непрерывно или полунепрерывно. Отрезок времени между циклами изменения давления может изменяться. При необходимости можно
25 использовать определенные профили давлений. Например, можно использовать постоянное давление для проведения реакции гидролиза, чередующееся со снижающимся давлением для извлечения мономеров и/или полимеров сахаров. Или время цикла можно увеличивать или уменьшать с течением времени и т.д.

[0066] Вакуум применяют периодически (т.е. после каждого цикла изменения
30 давления) по отношению к смеси для выкачивания раствора, богатого сахарами, только что растворенными, из полости волокон и смешивания раствора с гомогенным реагентом вне волокон, в котором сахара разбавляются. При снятии вакуума гомогенный реагент с более низкой концентрацией сахаров закачивается обратно в полость волокон. По завершении гидролиза вакуум можно применять по отношению
35 к смеси для выкачивания сахаров из полости волокон и жидкость можно откачивать из биомассы, в это же время в условиях вакуума.

[0067] Используемый в данном документе "полимер" сахаров означает цепь молекул сахара со степенью полимеризации по меньшей мере два. Могут быть получены
40 "олигомеры" сахаров (как правило, со степенью полимеризации от 2 до приблизительно 8) и/или также могут быть образованы и экстрагированы более длинные полимеры (например, со степенью полимеризации приблизительно 8 или выше). Мономеры или полимеры сахаров могут полностью растворяться в растворе или суспендироваться в растворе.

[0068] Мономеры и/или полимеры сахаров могут включать гексозные сахара в форме
45 мономера, олигомера или полимера, в том числе один или несколько из глюкозы, маннозы, галактозы, О-ацетилгалактоглокоманнана и кристаллов наноцеллюлозы. Мономеры и/или полимеры сахаров могут также включать пентозные сахара в форме мономера, олигомера или полимера, в том числе ксилозу и/или арабинозу. В некоторых

вариантах осуществления преимущественно получают мономерные сахара, которые лучше поддаются ферментации, чем полимерные сахара, при этом в некоторых вариантах осуществления преимущественно получают полимерные сахара ввиду значительно большей ценности полимерных сахаров.

5 [0069] По мере того как целлюлоза и гемицеллюлоза деполимеризуются, фрагменты становятся отделяемыми от биомассы и становятся более смешиваемыми с водой. Мономерные и олигомерные сахара хорошо растворимы в воде и некоторые высокомолекулярные полимерные сахара, такие как О-ацетилгалактоглокоманнан из мягкой древесины, также хорошо растворимы в воде. Деполимеризация целлюлозы в
10 аморфных областях для получения наноцеллюлозы описана в Nelson, "Apparent activation energy of hydrolysis of some cellulosic materials," Journal of Polymer Science 43 142 (1960): 351-371, который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки.

[0070] Кристаллы наноцеллюлозы (также известные как нанокристаллическая целлюлоза или нанокристаллы целлюлозы) получают в результате кислотного гидролиза
15 аморфных областей фибрилл целлюлозы, и они характеризуются длиной 100-600 нм и диаметром 2-20 нм. Согласно Peng et al., "Chemistry and applications of nanocrystalline cellulose and its derivatives: a nanotechnology perspective," The Canadian Journal of Chemical Engineering 89 5 (2011): 1191-1206, который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки, серная и хлористоводородная кислоты широко применяются при
20 получении кристаллов наноцеллюлозы. В связи с избытком заряженных сульфатных групп на ее поверхности кристаллы наноцеллюлозы, полученные в результате гидролиза при помощи серной кислоты, легко диспергируются в воде, при этом таковые, полученные в результате гидролиза хлористоводородной кислотой, не диспергируются так же легко и они в водных суспензиях обычно имеют тенденцию к выпадению
25 хлопьями (Peng et al.). По этой причине в предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения при получении кристаллов наноцеллюлозы используют серную кислоту.

[0071] Основными высокомолекулярными полимерами сахаров из биомассы являются кристаллы наноцеллюлозы (69 кДа), О-ацетилгалактоглокоманнан (20 кДа),
30 арабиноксилан (300 кДа), арабиногалактан (40 кДа) и ксилоглюкан (470 кДа). Высокомолекулярные полимеры сахаров довольно медленно диффундируют в воду со средним коэффициентом диффузии при 25°C приблизительно 10^{-11} м²/с. При диффузии в или из щепы мягкой древесины коэффициент диффузии снижается на приблизительно 40% из-за кривизны пути диффузии, при этом снижение в других типах биомассы похоже.
35 Учитывая, что средний размер древесной щепы составляет 12 мм и при условии, что диффузия происходит с обоих концов древесной щепы, диффузия высокомолекулярных полимеров сахара 6 мм из древесной щепы занимает приблизительно $(0,006 \text{ м}) / (10^{-11} \text{ м}^2/\text{с}) / 0,40 = 9 \times 10^6$ секунд или приблизительно 104 дня. Аналогично, приблизительно 19
40 часов необходимо серной кислоте для диффузии в древесную щепу и 1,8 дня для того, чтобы глюкоза диффундировала из центра деревянной щепы. Повышение температуры с 25°C до 50°C приблизительно вдвое увеличивает коэффициент диффузии, а повышение температуры с 25°C до 90°C увеличивает приблизительно в четыре раза коэффициент диффузии, но необходимое для диффузии внутрь волокон или из волокон время все
45 еще слишком велико для практического применения.

[0072] В некоторых вариантах осуществления вакуум применяют по отношению к биомассе и вводят гомогенный реагент в волокна в условиях вакуума. В определенных вариантах осуществления волокна настаивают в условиях вакуума, при этом обеспечивая

введение гомогенного реагента в реакционный сосуд в нижней части. При использовании гидролиза с применением разбавленной кислоты, высокомолекулярные полимеры целлюлозы и глюкозы будут растворяться в открытом пространстве внутри волокон богатого углеводами субстрата. Их следует периодически вытеснять из полости волокон путем применения вакуума по отношению к смеси. Как только гидролиз завершен, раствор сахаров можно экстрагировать из полости волокон путем применения вакуума и сливания раствора сахаров с биомассы.

[0073] Некоторые варианты осуществления способа включают регулицию pH реакционной смеси на уровне выше или в равновесии с жидким раствором путем изменения состава газовой фазы. Состав газовой фазы можно изменять путем изменения давления и/или состава газовой шапки (например, богатой CO₂ газовой шапки) над жидким раствором.

[0074] В определенных вариантах осуществления катализатор гидролиза содержит органическую кислоту, минеральную кислоту или их комбинацию, и при этом pH регулируют до приблизительно 2 или менее. В определенных вариантах осуществления катализатор гидролиза содержит один или несколько реагентов Фентона или реагентов, подобных реагентам Фентона, и при этом pH регулируют от приблизительно 2 до приблизительно 6 (например, от приблизительно 2 до 4). В других вариантах осуществления катализатор гидролиза содержит один или несколько ферментов, каждый из которых обладает целлюлолитической активностью и/или гемицеллюлитической активностью, и при этом pH регулируют от приблизительно 4 до приблизительно 7.

[0075] Точное регулирование pH, как известно, является основным требованием для эффективного гидролиза биомассы. В зависимости от природы применяемого(ых) реагента(ов) можно использовать различные подходы. В случае разбавленных кислот эти реагенты будут дозировать в необходимых количествах для приведения pH к более низкому уровню (например, от 1 до 3) для эффективного гидролиза. Кислоты, как правило, являются достаточно сильными для нейтрализации действия другого влияющего на pH вещества, которое может присутствовать.

[0076] При применении ферментов, технические требования более сложные. В частности, основной характеристикой ферментов-целлюлаз и - гемицеллюлаз является то, что они гидролизуют целлюлозу и гемицеллюлозу в узком диапазоне pH, ниже нейтрального. При использовании чистой целлюлозы или гемицеллюлозы после извлечения лигнина, оптимальный pH составляет примерно 5. Однако, когда присутствует лигнин, который может абсорбировать эти ферменты, оптимальный pH составляет примерно 6. Это описано в Lan et al., "Enzymatic saccharification of lignocelluloses should be conducted at elevated pH 5.2-6.2," BioEnergy Research 6 2 (2013): 476-485, который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки.

[0077] Поддержание данного уровня pH может требовать усилий, поскольку часто субстрат может содержать материалы, которые имеют склонность к повышению pH выше необходимого диапазона. Например, карбонат кальция часто используют в качестве покрытия для бумаги, и он присутствует в высоких концентрациях в бумажной макулатуре. При растворении в воде карбонат кальция делает воду более щелочной, зачастую значительно выше pH 8, при этом растворимость карбоната кальция снижается с повышением температуры. Этот эффект можно нейтрализовать путем забуферивания раствора реагента слабой кислотой или кислотой средней силы, которая снижает pH. Эффективной слабой кислотой является угольная кислота, которую можно получить путем растворения углекислого газа (CO₂) в воде. Путем регулирования состава газовой шапки над гомогенным реактивом, например, путем обеспечения газовой шапки,

богатой CO_2 или полностью состоящей из CO_2 , можно регулировать количество угольной кислоты в растворе для эффективного забуферивания раствора для противодействия эффекту подщелачивающих средств. При насыщении воды карбонатом кальция и при парциальном давлении углекислого газа в воде 10 кПа (0,1 атм) рН воды составляет 6,63, а при парциальном давлении 100 кПа (1,0 атм) рН раствора составляет 5,96. При парциальном давлении углекислого газа, который находится в атмосфере (35 Па, $3,5 \times 10^{-4}$ атм), рН раствора составляет 8,27. Таким образом, путем регуляции количества CO_2 в газовой шапке и/или парциального давления CO_2 можно регулировать рН даже в условиях насыщения карбонатом кальция.

[0078] Необходимо поддерживать рН гомогенного реагента при примерно от 1 до 2 в условиях гидролиза с применением разбавленной кислоты. В некоторых вариантах осуществления гомогенный реагент при 90°C содержит от 10 мМ (рН 1,97) до 200 мМ (рН 0,80) серной кислоты. При рН приблизительно 1 гидролиз происходит в приблизительно 10-20 раз быстрее, чем при рН приблизительно 2. Кинетика гидролиза с применением разбавленных кислот описана в Lenihan et al., "Kinetic modelling of dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass," Biofuel production-recent developments and prospects, InTech, Croatia (2011): 293-308, который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки.

[0079] При нейтрализации раствора сахара с разбавленной серной кислотой карбонатом кальция получают 1,4 кг сульфата кальция (сернокислого кальция) на каждый кг серной кислоты. Сульфат кальция характеризуется растворимостью 0,255 г/л при 20°C и 0,22 г/л при 90°C . В 100 мМ растворе серной кислоты будет осаждаться приблизительно 13,4 г/л сульфата кальция при нейтрализации карбонатом кальция. Больше сульфата кальция осаждается из раствора сахара после концентрирования и дальнейшего разделения фильтрацией. Сульфат кальция не является токсичным, и его можно использовать в качестве косвенного удобрения. Раствор сульфата кальция имеет рН приблизительно 7.

[0080] В некоторых вариантах осуществления раствор серной кислоты нейтрализуют гидроксидом натрия, получая сульфат натрия. Сульфат натрия намного более растворим в воде, чем сульфат кальция, и он также не токсичен. Раствор сульфата натрия имеет рН приблизительно 7.

[0081] Специалисту в данной области техники будет понятно, что можно применять известную установку для процессов, систем и способов, раскрытых в данном документе. Способы в данном документе могут быть периодическими, непрерывными, полунепрерывными или псевдонепрерывными. Любая ссылка на "чан" или "реактор" в данном документе должна истолковываться как означающая одно или множество таких устройств (например, расположенных последовательно или параллельно). Различные характеры течения могут быть желательными или наблюдаемыми. По отношению к химическим реакциям и одновременным процессам массопереноса, включающим множество фаз, гидродинамика может быть довольно сложной. В зависимости от конкретной конфигурации характер течения может приближаться к режиму идеального вытеснения или режиму идеального смешения.

[0082] Производительность или рабочая емкость могут широко изменяться от малых установок в лабораторных масштабах до биопереработки в полноценном промышленном масштабе, в том числе любом экспериментальном, демонстрационном или полупромышленном масштабе. В различных вариантах осуществления рабочая емкость составляет по меньшей мере приблизительно 1 кг/сутки, 10 кг/сутки, 100 кг/

сутки, 1 тонна/сутки (все тонны являются метрическими тоннами), 10 тонн/сутки, 100 тонн/сутки, 500 тонн/сутки, 1000 тонн/сутки, 2000 тонн/сутки или больше.

[0083] Полная система может находиться в фиксированном местоположении или ее можно сделать портативной. Система может быть выполнена с использованием элементов, которые можно легко дублировать для практического увеличения масштаба.

[0084] Различные датчики могут обеспечить возможность точного контроля и регулировку способа на протяжении различных стадий способа, абсолютно все и потенциально включая все стадии способа. Точный контроль способа, согласно ожиданиям, будет приводить в результате к улучшениям выхода и эффективности как динамически, так и с течением периода времени при использовании рабочей истории для корректировки условий способа (в том числе программы периодического изменения давления). В некоторых вариантах осуществления датчик осуществления реакции расположен в функциональной взаимосвязи с зоной, в которой происходит процесс. Такие датчики осуществления реакции могут быть пригодны для экстрагирования образцов жидкости и их анализа для определения степени гидролиза или состава сахаров и т.д. Изменения режимных характеристик могут быть основаны на измерениях, если они необходимы или желательны, с использованием хорошо известных принципов регулирования способа (обратной связи, прямой связи, пропорционально-интегрально-дифференциальная логика и т.д.).

[0085] Твердые, жидкие и газообразные потоки, полученные или возникающие в ходе осуществления способа, можно независимо повторно использовать, подавать на последующие стадии или удалять/исключать из способа в любой момент времени.

ПРИМЕРЫ

[0086] Следующие эксперименты демонстрируют принципы настоящего изобретения. Периодическое изменение давления, описанное выше, было продемонстрировано посредством экспериментальных данных как применимое для получения мономеров и/или полимеров сахаров из богатого углеводами субстрата.

[0087] Экспериментальная установка согласно фиг. 1 выполнена с возможностью воспроизведения функциональных характеристик промышленного способа в отношении температуры, давления и регуляции потока промышленной установки. Она отличается от промышленной установки загрузкой и выгрузкой биомассы (образца). Экспериментальную установку используют во всех примерах ниже, за исключением примера 1, в котором используют колбу Бюхнера для введения воды в несколько типов биомассы.

[0088] Со ссылкой на фиг. 1, экспериментальная установка 100 состоит из основного чана 102 для введения, который при эксплуатации оставляют почти полностью погруженным в термостатическую ванну 101, которую могут эксплуатировать в широком диапазоне температур, и точная регулировка температуры которой обеспечивается с помощью температурного регулятора 114. Чан 102 для введения зарыт съемной и уплотненной крышкой 118. Чан 102 для введения и уплотненная крышка 118 выполнены с возможностью сохранения и поддержания условий вакуума, необходимых в соответствии с технологическими условиями. Необходимое количество материала 117 образца (совершенно сухого или как есть) может быть помещено в чан 102 для введения. В чан 102 для введения может подаваться CO₂ посредством баллона CO₂ 106 и линии 107 CO₂. На линии 107 CO₂ используют регулятор 108 расхода/давления для установки давления, при котором CO₂ подают в чан 102 для введения. Вакуумный насос 103 используют для вакуумирования и поддержания вакуума в чане 102 для

введения. Манометр 116 и термометр 119 устанавливаются в чане 102 для введения. Чан 102 для введения соединен через запорный клапан 109 с контейнером 105 с приготовленным гомогенным реагентом. Вакуумный насос 103 соединен с чаном 102 для введения посредством линии, на которой установлен регулятор 110 давления. С помощью регулятора 110 давления обеспечивают регулировку давления в чане 102 для введения в широком диапазоне степеней вакуума, при этом вакуумный насос 103 эксплуатируют при постоянной скорости. Четырехходовой клапан 104 на газоотводе чана 102 для введения обеспечивает извлечение образцов через пробоотборник 111, изоляцию настольного чана 102 для введения, периодическое изменение давления 116 и рециркуляцию части образца обратно в чан 102 для введения без изменения давления и состава газовой шапки в нем.

[0089] Экспериментальная процедура для примеров 2-7 следующая. CO_2 используют в газовой шапке для регуляции pH реакционной смеси. В случае применения гидролиза с использованием разбавленной кислоты любой другой газ (в том числе воздух), инертный или не инертный, можно использовать в газовой шапке, при этом экспериментальная процедура является аналогичной. Предварительно смешанный и pH-буферный водный раствор получают отдельно в зависимости от конкретных нужд эксперимента; необязательно водный раствор может быть предварительно нагрет до представляющей интерес температуры. Образец биомассы помещают в чан 102 для введения. Какая-либо жидкость отсутствует в чане 102 для введения. Обычно образец помещают в чан как таковой и без проведения высушивания. Чан 102 для введения помещают в термостатическую ванну 101, которую эксплуатируют при температуре, установленной для эксперимента. Как только крышку 118 помещают на верхнюю часть чана 102 для введения, при использовании вакуумного насоса 103 и CO_2 из линии 107 какой-либо воздух выдувается, и над образцом образуется атмосфера CO_2 . Как только обеспечено выдувание какого-либо остаточного воздуха, поток свежего CO_2 из линии 107 перекрывают посредством приведения в действие регулятора 115 расхода. В чане 102 для введения обеспечивают падение давления до уровня, определенного в эксперименте, путем его регуляции посредством регулятора 110 давления.

[0090] Как только давление и температура стабилизируются на необходимом уровне, запорный клапан 109 открывают и обеспечивают введение предварительно смешанного гомогенного реагента в чан 102 для введения, в котором происходит введение. Количество материала образца устанавливают таким образом, чтобы в зависимости от насыпной плотности материала образец был полностью погружен, как только прекращается подача жидкости. За счет правильно выбранных температуры и давления, кипения жидкости можно избежать (кипение вызывает значительное высвобождение пузырьков газа). После завершения введения катализатора и закрытия запорного клапана 109 парциальное давление CO_2 , составляющее одну атм, устанавливают посредством открытия и регуляции регулятора 108 расхода и давления.

[0091] Затем эксперимент может проходить в течение необходимого времени. Если в ходе эксперимента необходим жидкий образец, к пробоотборнику 111 четырехходового клапана 104, который установлен для обеспечения заполнения шприца жидкостью, может быть присоединен шприц. Любая остаточная жидкость стекает обратно в чан через патрубок четырехходового клапана, как только шприц удаляют и пробоотборник 111 закрывают.

[0092] Данная экспериментальная установка позволяет осуществлять периодическое изменение давления. Если необходим цикл изменения давления, регулятор 108 расхода

и давления закрывают, а четырехходовой клапан 104 сообщают с линией в вакуумный насос 103. Уровень давления регулируют посредством настройки регулятора 110 давления. По достижении необходимого низкого давления его поддерживают в течение необходимого времени, а затем закрывают четырехходовой клапан 104 для изоляции вакуумной линии и снова открывают регулятор 108 расхода и давления для обеспечения течения CO₂ в чан 102 для введения, а также для восстановления более высокого парциального давления. В ходе процедуры газовая шапка остается состоящей из преимущественно CO₂ и любых количеств водяного пара, который может находиться в равновесии. По завершении эксперимента поднимают съемную крышку 119 и удаляют жидкость и сухой остаток для анализа и дополнительной обработки. Однако перед проведением какого-либо анализа образцы быстро охлаждают водой со льдом для остановки какого-либо гидролиза.

[0093] Аналитические способы, применяемые для определения концентрации растворенного сахара, представляют собой либо дифрактометрический анализ, либо спектрофотометрический анализ оптической плотности с использованием динитросалициловой кислоты (анализ с применением DNS) для определения концентрации растворенного редуцирующего сахара, как описано в отчете о техническом состоянии NREL/TP-510-42628 Национальной лаборатории возобновляемой энергии Министерства энергетики США, опубликованном в январе 2008 года, который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки. Поскольку оба способа представляют собой оптические способы и будут зависеть от наличия взвешенных частиц, даже очень мелких, перед анализом образцы центрифугируют при высокой скорости (14000 об./мин.) в течение пяти минут в лабораторной центрифуге.

[0094] Пример 1. Демонстрация вакуумного введения и извлечения мономеров и/или полимеров сахаров

[0095] Используют 500-мл колбу Бюхнера с пробкой с клапаном, с помощью которого в открытом состоянии медленно подают воду в колбу для поддержания давления вакуума. Солому длиной 10 мм помещают на дно колбы и сверху нее размещают монету. Затем с помощью вакуумного насоса понижают давление до 16 кПа и поддерживают при данном давлении в течение 5 минут. Затем в колбу выливают примерно 200 мл воды под давлением 16 кПа. Затем давление обратно приводят к 100 кПа в течение 5 минут. Монета отрывается от соломы, и при этом солома остается на дне колбы. Давление понижают до 16 кПа, и солома всплывает наверх. При очередном повышении давления до 100 кПа солома погружается. Это повторяют 10 раз, при этом, в качестве альтернативы, всплытие и погружение соломы происходит почти сразу после изменения давления.

[0096] Аналогично, 12 мм деревянный кубик из сухой сосны помещают на дно колбы и сверху него размещают монету. Затем с помощью вакуумного насоса понижают давление до 16 кПа и данное давление поддерживают в течение 10 минут. Затем примерно 200 мл воды выливают в колбу под давлением 16 кПа, и давление обратно приводят к 100 кПа в течение 15 минут. Монета отрывается от деревянного кубика, и при этом деревянный кубик остается на дне колбы. Давление понижают до 16 кПа, и при этом деревянный кубик сразу всплывает наверх, а при очередном повышении давления до 100 кПа деревянный кубик погружается с задержкой приблизительно 15 секунд. Это повторяют 10 раз, при этом, деревянный кубик, в качестве альтернативы, быстро всплывает и медленно погружается после изменения давления.

[0097] Проводят аналогичное испытание с деревянным кубиком за исключением того, что исходное давление вакуума поддерживают в течение 30 минут вместо 10

минут. Результаты являются аналогичными за исключением того, что имеет место задержка приблизительно 5 секунд перед погружением вместо задержки приблизительно 15 секунд перед погружением.

[0098] В данном примере 1 показано, что применение введения в вакууме для введения раствора в полости лигноцеллюлозной биомассы, а также применение извлечения мономеров и/или полимеров сахаров в вакууме для выведения раствора из полости лигноцеллюлозной биомассы возможно.

[0099] Пример 2. Демонстрация способа с ферментативным гидролизом

[00100] Коммерчески доступный фермент-целлюлаза предоставлен изготовителем (Novozymes) в порошкообразной форме. Установка описана выше (фиг. 1). Фермент добавляют в воду в достаточном количестве для обеспечения того, чтобы сразу после контакта с 50 граммами субстрата (в пересчете на сухой вес) общее содержание твердых веществ в системе составляло 15 вес. %. Субстрат представляет собой бумагу. Для иллюстрации обычных смесей вторичной бумаги образец представляет собой на 50% конторскую бумагу (крафт-целлюлозу) и на 50% газетную бумагу (древесную массу).

[00101] Ферменты добавляют при удельных нагрузках 0,05, 0,11 и 0,17 граммов фермента на грамм субстрата, где субстрат представляет собой целлюлозную фракцию образца бумаги. Такие количества фермента добавляют в три раствора дистиллированной воды, насыщенной углекислым газом воды и насыщенной углекислым газом воды с добавлением карбоната кальция.

[00102] Эксперимент проводят посредством воздействия на три образца субстрата гидролизом в течение 8-часового периода. Образцы отбирают через 4, 6 и 8 часов, причем с последним образцом также прекращают эксперимент. Результаты показаны в таблице 1, где в первой строке указаны различные загрузки фермента, а в первой колонке указано время в часах, через которое отбирали образцы. Числами в таблице 1 указана концентрация сахара в воде, выраженная в граммах на литр. При сравнении с контрольной группой (не показана) на основании такого же эксперимента, проведенного без добавления фермента, ферментативный гидролиз подтверждается в таких экспериментах. Температуру поддерживают постоянной при 40°C в течение продолжительности эксперимента.

Таблица 1. Концентрация сахара в зависимости от времени при различных нагрузках фермента (пр. 2)

<u>Часы</u>	<u>Загрузка фермента* 0,05 г/г</u>	<u>Загрузка фермента* 0,11 г/г</u>	<u>Загрузка фермента* 0,17 г/г</u>
4	13,17 г/л	23,54 г/л	29,87 г/л
6	13,17 г/л	26,69 г/л	35,20 г/л
8	17,29 г/л	28,81 г/л	36,27 г/л

* Загрузка фермента представлена в пересчете на граммы ферментов на граммы субстрата

[00103] Пример 3. Демонстрация способа с регуляцией pH

[00104] Как отмечалось выше, регуляция pH является ключевой проблемой при ферментативном гидролизе. Важно соответствующее забуферивание раствора, поскольку

отсутствие физического перемешивания в ходе и после введения создает проблемы для корректировки рН посредством добавления химического вещества. В частности, при гидролизе макулатуры получают высокоосновную среду, если отсутствует забуферивание рН. Это связано с широким использованием карбоната кальция (CaCO_3)

5 в обычной бумаге. Карбонат кальция используют как в качестве наполнителя, так и для защиты бумаги от разложения в следствие подкисления. Раствор воды с высоким содержанием твердых веществ/бумаги обычно будет иметь рН около 8 без какого-либо забуферивания, и при этом данная величина является слишком высокой для эффективной активности фермента.

10 [00105] В данной серии экспериментов забуферивание обеспечивают тремя альтернативными способами. В первом способе забуферивание не предусмотрено в воде, при этом полностью полагаются на газовую шапку CO_2 в системе для забуферивания раствора благодаря растворению CO_2 в жидкости. Во втором способе
15 используют насыщенную углекислым газом воду. При предварительном насыщении углекислым газом воды будет обеспечиваться то, что равновесные условия будут достигаться быстрее при применении газовой шапки. В третьем способе помимо предварительного насыщения воды CO_2 добавляют насыщенный карбонат кальция. В этом способе следует исключить любую неопределенность, связанную с возможным
20 количеством карбоната кальция, который привносят в раствор с бумагой. Поскольку вода уже насыщена карбонатом кальция, какое-либо добавление не влияет на равновесие уровня рН, когда вода также находится в равновесии с газовой фазой CO_2 при 1 атм парциального давления.

[00106] В первом случае буферность обеспечивается только парциальным давлением
25 CO_2 в газовой шапке чана для введения во время гидролиза. Во втором случае вода также насыщена CO_2 посредством насыщения углекислотой перед введением. В третьем случае насыщенная углекислым газом вода также насыщена карбонатом кальция. Добавляемое количество карбоната кальция составляет столько, сколько необходимо для обеспечения насыщения при рабочих условиях введения.
30

[00107] Конечный рН раствора только с газовой шапкой CO_2 измеряют равным 6,5. Наряду с газовой шапкой CO_2 также используют насыщение углекислотой воды, при этом измеренный рН составляет 5,7. При использовании газовой шапки CO_2 с насыщением углекислотой, а также добавления CaCO_3 измеренный рН составляет 6,1.
35

[00108] Доказана эффективность использования забуференного раствора в комбинации с высоким парциальным давлением CO_2 в газовой шапке для регуляции рН в диапазоне, пригодном для гидролиза посредством целлюлазных ферментов, что демонстрируется конечным рН, зафиксированным по окончании гидролиза после
40 получения водного раствора. Во всех случаях, результат выгодно отличается от рН незабуференного раствора, который составляет около 8.

[00109] Пример 4. Демонстрация способа с ферментативным гидролизом

[00110] При разделении воды и твердых веществ после эксперимента примера 2 обратное выделение жидкости составляло только до приблизительно 50% добавленной
45 воды, при этом остальная поглощалась образцом субстрата. Поскольку наиболее эффективный ферментативный гидролиз будет происходить вблизи волокна, а введение будет приводить к большему количеству фермента внутри полости волокна, предполагается, что растворенные сахара могут оставаться внутри волокна, и не могут быть извлечены из массы жидкости в случае, в котором исходят только из диффузии.

Для испытания данного принципа проводят две серии экспериментов, обе эквивалентные примеру 2, с применением воды без добавления компонентов, отличных от фермента, а также продолжительностью четыре часа.

[00111] По завершении эксперимента в одном случае удаляют воду, а затем проводят анализ, как в примере 2. Во второй серии экспериментов остаточную биомассу превращают в волокнистую массу (механически очищают) и отделяют воду только посредством фильтрации после того, как остаточный целлюлозный материал был тщательно превращен в волокнистую массу. Таким образом, концентрацию растворенного сахара, как предполагают, доводят до однородности по всей жидкой массе и, как предполагают, высвобождают какой-либо растворенный сахар, включенный внутри волокна. Температуру поддерживают постоянной при 40°C в течение продолжительности эксперимента.

[00112] Результаты показаны в таблице 2. Этот результат показывает, что присутствует значительное количество дополнительного растворенного сахара, заключенного в волокне, что соответствует принципам глубокого проникания ферментов внутрь волокна, изложенным в данном документе.

Таблица 2. Концентрация сахара (через 4 часа) в зависимости от времени при различных загрузках фермента (пр. 3)

20

25

30

	Загрузка фермента* <u>0,05</u> г/г	Загрузка фермента* <u>0,11</u> г/г	Загрузка фермента* <u>0,17</u> г/г
Без превращения в волокнистую массу	13,17 г/л	23,54 г/л	29,87 г/л
С превращением в волокнистую массу	17,29 г/л	29,87 г/л	38,42 г/л

* Загрузка фермента представлена в пересчете на граммы ферментов на граммы субстрата

[00113] Пример 5. Демонстрация способа с периодическим изменением давления

[00114] Определив в примере 4, что в отсутствие механического перемешивания сахар, полученный посредством ферментативного гидролиза внутри волокна, не может быть эффективно извлечен простым обезвоживанием, для демонстрации того, что периодическое изменение давления в процессе гидролиза обеспечивает повышение массопереноса и способствует извлечению растворенного сахара из полости в объем жидкой массы, используется периодическое изменение давления. В данном эксперименте используют насыщенный углекислотой и насыщенный карбонатом кальция забуференный раствор. Загрузка фермента составляет 0,022 г фермента (как есть) на граммы субстрата. Температуру поддерживают при 40°C и введение проводят при двух значениях давления 58 кПа и 16 кПа. После введения давление восстанавливают для обеспечения 100 кПа общего давления с газовой шапкой CO₂.

Таблица 3. Концентрация сахаров (г/л) без и с периодическим изменением давления (пр. 5)

5 Время (час)	58 кПа,	16 кПа,	58 кПа,	16 кПа,
	<u>Без</u> <u>периодического</u> <u>изменения</u>	<u>Без</u> <u>периодического</u> <u>изменения</u>	<u>С</u> <u>периодическим</u> <u>изменением</u>	<u>С</u> <u>периодическим</u> <u>изменением</u>
0	0	0	0	0
10 0,25	2	2	4	4
0,5	4	3	4	6
0,75	5	5	5	7
1	5	5	5	7
1,25	5	6	6	7
15 1,5	6	6	7	8
2	7	7	8	9
2,5	7	7	8	9
3	7	7	8	9
3,5	8	8	9	10
20 4	9	9	10	11
4,5	9	10	11	12
5	11	11	12	13
25 6	12	11	13	15
7	13	13	14	16
8	14	14	15	17

[00115] В экспериментах без периодического изменения давления жидкий образец отбирали из чана для введения без какого-либо изменения давления газовой шапки, которое поддерживают постоянным посредством регулятора 108 давления на линии 107 CO₂. В экспериментах с периодическим изменением давления непосредственно перед отбором образца давление периодически изменяют путем приложения вакуумма в 16 кПа в течение 5 минут, а затем восстановления постоянного давления 100 кПа. Образец отбирают после восстановления давления 100 кПа. В таблице 3 показано количество сахара в жидкости (г/л) для четырех случаев: введение при 58 кПа без периодического изменения давления, введение при 16 кПа без периодического изменения давления, введение при 58 кПа с периодическим изменением давления и введение при 16 кПа с периодическим изменением давления.

[00116] В таблице 3 показано, что в данном случае скорость получения сахара не зависит от давления введения, если не проводят периодическое изменение давления, и что больше сахара получают при введении при 16 кПа, чем при введении при 58 кПа, если проводят периодическое изменение давления. Это подтверждает то, что периодическое изменение давления в соответствии с настоящим изобретением приводит к более высокой скорости получения сахара, чем в случае без периодического изменения давления, и что более низкое давление введения катализатора в результате приводит к более высокой скорости получения сахара, чем при более высоком давлении введения катализатора. Без ограничения какой-либо теорией данный результат согласуется с

теорией о том, что периодическое изменение давления приводит в результате к выведению жидкости в полости волокон и смешиванию с водой вне полости.

[00117] Пример 6. Демонстрация способа с варьированием концентрации кислоты

[00118] Периодическое изменение давления с варьированием количеств серной кислоты используют для демонстрации того, что периодическое изменение давления во время процесса гидролиза способствует извлечению растворенного сахара из полости в объем жидкой массы. В данном эксперименте воду с 0, 18 и 180 мМ серной кислоты вводят при 16 кПа в опилках мягкой древесины. Воду вводят при 50°C. После введения давление возвращают к значению 100 кПа, а с помощью 90°C водяной бани повышают температуру раствора до 90°C. В различные моменты времени давление понижают до приблизительно 70 кПа в течение 5 минут таким образом, чтобы вода кипела, затем давление быстро повышают до 100 кПа и отбирают образец. В таблице 4 ниже показано количество сахара в жидкости (г/л) для трех различных концентраций серной кислоты.

[00119] В таблице 4 подтверждается, что концентрация сахара медленно повышается при введении только горячей воды. Через 2 часа в 400 мл воды находится 3 г/л или всего 1,2 г сахара из 50 г деревянных опилок или приблизительно 24 мг/г дерева. Данное количество фактически приблизительно в 4 раза больше, как и количество экстрагированного за 2 часа сахара, количества 6 мг/г хвойной древесины, описанного в Azhar et al., "Extraction of hemicelluloses from fiberized spruce wood," Carbohydrate polymers 117 (2015): 19-24, который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки. Это подтверждает, что посредством периодического изменения вакуума с применением воды с точной температурой 90°C (без добавления кислоты) удаляют О-ацетилгалактоглоукоманнан более эффективно, чем из распушенной хвойной древесины.

Таблица 4. Концентрации сахара (г/л) для различных концентраций кислоты (пр. 6)

<u>Время</u> <u>(час)</u>	<u>0 мМ</u> <u>H₂SO₄</u>	<u>18 мМ</u> <u>H₂SO₄</u>	<u>180 мМ</u> <u>H₂SO₄</u>
0,00	0	0	0
0,25	1	1	2
0,75	1	2	6
1,00	1	3	8
1,25	3	3	11
1,50	3	4	12
2,00	3	5	15
2,50	4	5	18
3,00	3	5	20
3,50	3	5	20
19,00	4	11	39

20,00	4	10	39
27,00	4	13	42

[00120] Значение рН 18 мМ раствора серной кислоты в деревянных опилках составляет 1,62, а значение рН 180 мМ раствора составляет 0,77, причем разность рН составляет приблизительно 0,85. Для 18 мМ раствора требуется 27 часов для достижения 13 г/л

сахара, при этом для 180 мМ раствора требуется приблизительно 1,75 часа для достижения 13 г/л сахара. Данное отношение приблизительно в 15 раз больше при рН разности 0,85, что сопоставимо с кинетикой для растворения галактоглоукоманна, описанной в таблице 1 в Xu et al., "Kinetics of acid hydrolysis of water-soluble spruce O-acetyl galactoglucomans," Journal of agricultural and food chemistry 56 7 (2008): 2429-2435, который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки.

[00121] Пример 7. Демонстрация способа с многократными циклами изменения давления

[00122] Вводят 180 мМ серной кислоты в щепу мягкой древесины и сравнивают количество свободного сахара, полученного в случае без периодического изменения давления, с таковым для случая с применением периодического изменения давления. В данном эксперименте используют два чана для введения: один без периодического изменения давления, а другой с периодическим изменением давления. В каждый чан для введения вводят 400 мл воды со 180 мМ серной кислоты при 16 кПа в 50 г 12-мм кубиков из мягкой древесины. Воду вводят при 50°C. После введения давление возвращают к значению 100 кПа и рабочую температуру повышают до 90°C.

[00123] Образцы отбирают из каждого чана каждые 30 минут в течение 7 часов. В одном из чанов непосредственно перед отбором образца давление понижают до приблизительно 70 кПа в течение 5 минут таким образом, чтобы вода кипела; затем давление быстро возвращают к значению 100 кПа. Образцы отбирают из каждого чана для введения в одно и то же время. В таблице 5 показано количество свободного сахара в жидкости (г/л) в двух чанах для введения.

[00124] Результаты, показанные в таблице 5, указывают на более быстрое повышение свободного сахара при периодическом изменении давления. Улучшенный массоперенос, достигаемый с помощью периодического перемешивания жидкости посредством быстрых изменений давления и вызванного образования пузырьков, способствует как увеличению скорости гидролиза, так и извлечению свободного сахара из полости древесного волокна в жидкость в объеме. Это свидетельствует о том, что периодическое изменение давления резко улучшает производительность введения в вакууме посредством преодоления диффузионных ограничений без необходимости какого-либо дополнительного механического перемешивания.

35

40

45

Таблица 5. Концентрация сахаров (г/л) без и с периодическим изменением давления (пр. 7)

<u>Время</u> <u>(час)</u>	<u>Постоянное</u>	<u>С</u> <u>периодическим</u> <u>изменением</u>
0,0	0	0
0,5	2	2
1,0	3	4
1,5	4	7
2,0	5	8
2,5	6	10
3,0	7	13
3,5	6	13
4,0	7	15
4,5	9	19
5,0	10	24
5,5	10	27
6,0	11	31
6,5	11	33
7,0	12	35

[00125] В данном подробном описании была сделана ссылка на несколько вариантов осуществления, а также на прилагаемые графические материалы, на которых с целью иллюстрации показаны конкретные варианты осуществления настоящего изобретения. Такие варианты осуществления описаны для обеспечения специалисту в данной области возможности осуществления изобретения, и при этом следует понимать, что специалистом в данной области могут быть выполнены модификации в различных раскрытых вариантах осуществления.

[00126] Там, где способы и стадии, описанные выше, указывают на некоторые действия, происходящие в определенном порядке, специалисту в данной области будет понятно, что порядок некоторых стадий может быть изменен, и что такие модификации находятся в соответствии с вариантами настоящего изобретения. Кроме того, некоторые стадии могут осуществляться одновременно в параллельном процессе, когда это возможно, а также осуществляться последовательно.

[00127] Все публикации, патенты и патентные заявки, цитируемые в данном описании, включены посредством ссылки во всей своей полноте, как если бы каждая публикация, патент или заявка на патент были конкретно и отдельно размещены в данном документе.

[00128] Варианты осуществления, варианты и фигуры, описанные выше, должны предусматривать указание на полезность и универсальность настоящего изобретения. Другие варианты, которые не предусматривают все признаки и преимущества, указанные в данном документе, также могут быть использованы без отступления от сущности и объема настоящего изобретения. Такие модификации и варианты, как полагают, находятся в пределах объема настоящего изобретения, определенного формулой изобретения. В случае противоречия между определениями в данном описании и в

словаре или по другой ссылке, данное описание будет иметь преимущественную силу.

Формула изобретения

1. Способ получения мономеров и/или полимеров сахаров из богатого углеводами субстрата, включающий следующие стадии:

(a) обеспечения богатого углеводами субстрата и водного раствора, содержащего катализатор гидролиза, и поддержания давления газа над указанным богатым углеводами субстратом на уровне давления вакуумирования и в течение времени вакуумирования для введения катализатора гидролиза в богатый углеводами субстрат при температуре введения катализатора с получением при этом реакционной смеси;

(b) воздействия на указанную реакционную смесь посредством давления газовой фазы на стадии проведения реакции гидролиза, которое является более высоким, чем указанное давление вакуумирования;

(c) выдерживания указанной реакционной смеси при температуре реакции гидролиза в течение времени реакции гидролиза с получением указанных мономеров и/или полимеров сахаров в открытом пространстве внутри волокон указанного богатого углеводами субстрата;

(d) воздействия на указанную реакционную смесь посредством давления газовой фазы на стадии извлечения указанных мономеров и/или полимеров сахаров, которое ниже указанного давления реакции гидролиза, для выведения указанных мономеров и/или полимеров сахаров из указанного открытого пространства внутри волокон указанного богатого углеводами субстрата и в указанный водный раствор;

(e) выдерживания указанной реакционной смеси при температуре извлечения указанных мономеров и/или полимеров сахаров в течение времени извлечения указанных мономеров и/или полимеров сахаров;

(f) повторения стадий (b)-(e) в течение по меньшей мере двух циклов изменения давления для выведения указанных мономеров и/или полимеров сахаров из указанного открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата; и

(g) выделения указанных мономеров и/или полимеров сахаров из указанного водного раствора,

причем указанный способ не включает обработку водяным паром или разрушение аммиаком волокон указанного богатого углеводами субстрата.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный богатый углеводами субстрат выбирают из группы, состоящей из лигноцеллюлозной биомассы природного происхождения, обработанной лигноцеллюлозной биомассы, волокнистой массы, бумаги, продуктов на основе бумаги, богатых углеводами промышленных отходов и их комбинаций.

3. Способ по п. 2, отличающийся тем, что указанный богатый углеводами субстрат включает указанную лигноцеллюлозную биомассу природного происхождения, выбранную из группы, состоящей из измельченной мягкой древесины, жома сахарного тростника, пшеничной соломы, кукурузной соломы, проса прутьевидного, мискантуса и их комбинаций.

4. Способ по п. 2, отличающийся тем, что указанный богатый углеводами субстрат включает богатые углеводами промышленные отходы, выбранные из группы, состоящей из пищевых отходов, компонентов городских твердых отходов и их комбинаций.

5. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанные мономеры и/или полимеры сахаров включают пентозные и/или гексозные сахара в форме мономера, олигомера или полимера, в том числе один или несколько из ксилозы, арабинозы, глюкозы,

маннозы, галактозы, О-ацетилгалактоглокоманнана и кристаллов наноцеллюлозы.

6. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный катализатор гидролиза содержит органическую кислоту, минеральную кислоту, перекись водорода или их комбинацию.

7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что указанный катализатор гидролиза содержит серную кислоту в количестве, которое приводит к тому, что указанный водный раствор характеризуется концентрацией серной кислоты от 10 мМ до 200 мМ.

8. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный катализатор гидролиза содержит один или несколько реагентов Фентона или реагентов, подобных реагентам Фентона, в том числе перекись водорода и один или множество переходных металлов, с получением молярного соотношения указанной перекиси водорода и указанных переходных металлов в диапазоне от 20 до 100.

9. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный катализатор гидролиза содержит один или несколько ферментов, каждый из которых обладает целлюлолитической активностью и/или гемицеллюлолитической активностью.

10. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный водный раствор на стадии (а) представляет собой гомогенную смесь, при этом способ дополнительно включает смешивание указанного катализатора гидролиза с технологической водой с использованием энергии турбулентности в диапазоне от 0,5 Вт/кг до 5 Вт/кг с получением указанной гомогенной смеси.

11. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанная температура реакции гидролиза составляет от 40°C до 95°C, и/или указанное время реакции гидролиза составляет от 15 минут до 8 часов.

12. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанное время извлечения указанных мономеров и/или полимеров сахаров составляет от 1 секунды до 60 минут.

13. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанное давление извлечения указанных мономеров и/или полимеров сахаров составляет от 100% до 200% равновесного давления паров воды при указанной температуре реакции гидролиза.

14. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанное количество циклов изменения давления составляет от 3 до 200.

15. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанная температура введения катализатора меньше температуры кипения воды при указанном давлении вакуумирования или равна ей.

16. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанная температура введения катализатора составляет от 40°C до 90°C.

17. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанное давление вакуумирования составляет от 105% до 200% равновесного давления паров воды при указанной температуре введения катализатора.

18. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанное время вакуумирования составляет от 1 минуты до 2 часов.

19. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный способ дополнительно включает регулирование величины рН указанной реакционной смеси на уровне выше или в равновесии с указанным водным раствором путем изменения состава газовой фазы.

20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что указанный катализатор гидролиза содержит органическую кислоту, минеральную кислоту или их комбинацию, и при котором указанную величину рН регулируют до величины 2 или менее.

21. Способ по п. 19, отличающийся тем, что указанный катализатор гидролиза содержит один или несколько реагентов Фентона или реагентов, подобных реагентам

Фентона, и необязательно одну или несколько минеральных кислот, и при этом указанную величину рН регулируют от 1 до 6.

22. Способ по п. 19, отличающийся тем, что указанный катализатор гидролиза содержит один или несколько ферментов, каждый из которых обладает
5 целлюлолитической активностью и/или гемицеллюлолитической активностью, и при этом указанную величину рН регулируют от 4 до 7.

23. Способ получения мономеров и/или полимеров сахаров из богатого углеводами субстрата, имеющего открытое пространство внутри волокон, при этом указанный способ включает осуществление гидролиза указанного богатого углеводами субстрата
10 в присутствии водного раствора, содержащего катализатор гидролиза, и периодическое изменение давления газа от давления реакции гидролиза до давления извлечения указанных мономеров и/или полимеров сахаров в течение по меньшей мере трех циклов изменения давления, причем при указанном давлении реакции гидролиза происходит образование указанных мономеров и/или полимеров сахаров внутри указанного
15 открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата, а при указанном давлении извлечения указанных мономеров и/или полимеров сахаров происходит выведение указанных мономеров и/или полимеров сахаров из указанного открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата и в указанный
20 водный раствор, причем указанный способ не включает обработку паром или разрушение аммиаком волокон указанного богатого углеводами субстрата.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что скорость массопереноса указанных мономеров и/или полимеров сахаров, перемещаемых из указанного открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата, превышает скорость
25 диффузии указанных мономеров и/или полимеров сахаров, диффундирующих из указанного открытого пространства внутри волокон богатого углеводами субстрата.

25. Способ по п. 23, отличающийся тем, что скорость реакции гидролиза образования указанных мономеров и/или полимеров сахаров является более высокой, чем при каком-либо аналогичном способе, не включающем стадию периодического изменения
30 указанного давления газа.

30

35

40

45

