



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105189765 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 23

(21) 申请号 201480010787. 8

(87) PCT国际申请的公布数据

(22) 申请日 2014. 03. 07

W02014/138594 EN 2014. 09. 12

(30) 优先权数据

(71) 申请人 希乐克公司

- 61/774, 684 2013. 03. 08 US
- 61/774, 773 2013. 03. 08 US
- 61/774, 731 2013. 03. 08 US
- 61/774, 735 2013. 03. 08 US
- 61/774, 740 2013. 03. 08 US
- 61/774, 744 2013. 03. 08 US
- 61/774, 746 2013. 03. 08 US
- 61/774, 750 2013. 03. 08 US
- 61/774, 752 2013. 03. 08 US
- 61/774, 754 2013. 03. 08 US
- 61/774, 775 2013. 03. 08 US
- 61/774, 780 2013. 03. 08 US
- 61/774, 761 2013. 03. 08 US
- 61/774, 723 2013. 03. 08 US
- 61/793, 336 2013. 03. 15 US

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 M·梅多夫 T·C·马斯特曼

M·W·费恩 A·帕普利斯

N·A·科亚基纳

(74) 专利代理机构 北京市铸成律师事务所

11313

代理人 孟锐

(51) Int. Cl.

C12P 7/52(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 08. 27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/021796 2014. 03. 07

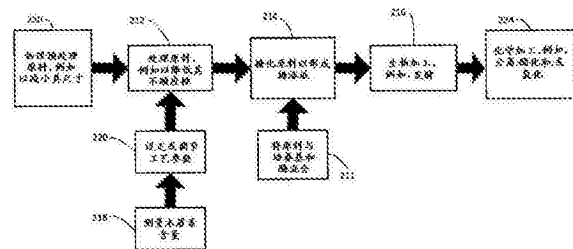
权利要求书2页 说明书41页 附图4页

(54) 发明名称

加工和转化生物质

(57) 摘要

对生物质（例如，植物生物质、动物生物质以及城市废物生物质）进行加工以产生有用的中间体和产物，如能量、燃料、食品或材料。将糖化生物质在两个步骤中发酵以形成两种单独的产物。第二产物可以是羧酸，使所述羧酸与醇反应以形成酯。用于酯化的醇可从生物质获得。用催化剂将酯氢化成醇。



1. 一种制备产物的方法,所述方法包括:  
从糖化生物质糖产生一种或多种酸;  
将所述一种或多种酸转化成一种或多种酯;以及  
利用催化剂和氢来使所述一种或多种酯氢化以产生一种或多种产物,包括醇。
2. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述一种或多种酸通过所述糖化生物质糖的发酵来产生。
3. 如权利要求 1 或 2 所述的方法,其中所述一种或多种酸包括丁酸或乙酸。
4. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述糖化生物质糖通过用选自以下组成的下组的方法糖化纤维素或木质纤维素生物质材料来产生:一种或多种酶、一种或多种酸以及这些的组合。
5. 如权利要求 4 所述的方法,还包括通过电子束照射降低所述纤维素或木质纤维素材料的不顺应性。
6. 如权利要求 5 所述的方法,其中所述照射剂量是 10 与 200Mrad 之间。
7. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述催化剂包括选自以下组成的组的金属:Pt、Os、Re、Ru、Rb、Ni、Co、Mo、W、Zn、Cr、Cu、这些的氧化物以及这些的组合。
8. 如权利要求 7 所述的方法,还包括施加约 5 与 120 个大气压之间的氢气压力,同时利用催化剂以产生醇。
9. 如权利要求 1 所述的方法,还包括在将所述一种或多种酸转化成一种或多种酯之前分离所述酸中的至少一种。
10. 如权利要求 1 所述的方法,其中所述酯选自以下组成的组:丁酸乙酯、丁酸丁酯、丁酸己酯以及丁酸辛酯。
11. 一种制备产物的方法,所述方法包括:  
将糖化处理的木质纤维素材料的所述发酵的所述产物转化成酯,以及  
通过使所述酯在氢存在下通过第一催化剂来产生醇。
12. 如权利要求 11 所述的方法,还包括使所述酯通过第二催化剂。
13. 如权利要求 12 所述的方法,其中所述第一催化剂和所述第二催化剂是不同的催化剂。
14. 如权利要求 12 所述的方法,其中所述第一催化剂和所述第二催化剂是相同的催化剂。
15. 如权利要求 12 所述的方法,还包括施加第一压力的氢同时使所述酯通过所述第一催化剂,并且施加第二压力的氢同时使所述酯通过所述第二催化剂,其中所述第一压力比所述第二压力高至少 10psi。
16. 如权利要求 12 所述的方法,还包括将所述第一催化剂加热至第一温度同时使所述酯通过所述第一催化剂,并且将所述第二催化剂加热至第二温度同时使所述酯通过所述第二催化剂,其中所述第一温度比所述第二温度高至少 10°C。
17. 如权利要求 12 所述的方法,其中所述第一催化剂和所述第二催化剂包含选自以下组成的组的金属:Pt、Re、Os、Ru、Rb、Ni、Co、Mo、W、Zn、Cr、这些的氧化物以及这些的组合。
18. 如权利要求 12 所述的方法,还包括施加约 5 与 100 个大气压之间的氢气压力,同时使所述氢通过所述第一催化剂和 / 或所述第二催化剂。

19. 如权利要求 12 所述的方法,其中所述发酵的所述产物包含羧酸。
20. 如权利要求 19 所述的方法,其中所述羧酸具有 1 至 20 个碳和 1 至 5 个羧酸基团。
21. 如权利要求 19 或 20 所述的方法,其中所述羧酸是丁酸。
22. 如权利要求 11 所述的方法,其中所述发酵产物包含醇。
23. 如权利要求 11 所述的方法,其中所述酯选自由以下组成的组:丁酸乙酯、丁酸丁酯、丁酸己酯以及丁酸辛酯。
24. 如权利要求 1 所述的方法,还包括将所述生物质发酵成至少两种发酵产物,其中所述产物中的所述两种是所述酸和醇,所述酸和醇进而反应以形成酯。

## 加工和转化生物质

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请以引用的方式并入以下共同未决的临时申请的全部公开内容：2013年3月8日提交的共同未决的临时申请：USSN 61/774,684；USSN 61/774,773；USSN 61/774,731；USSN 61/774,735；USSN 61/774,740；USSN 61/774,744；USSN 61/774,746；USSN 61/774,750；USSN 61/774,752；USSN 61/774,754；USSN 61/774,775；USSN 61/774,780；USSN 61/774,761；USSN 61/774,723；以及2013年3月15日提交的USSN 61/793,336。

[0003] 发明背景

[0004] 随着对石油的需求增加，对用于制造生物燃料和生物化学物质的可再生原料的兴趣也在增加。自20世纪70年代以来已对木质纤维素生物质作为用于所述制造方法的原料的用途进行了研究。木质纤维素生物质因其丰富、可再生、在国内生产，并且不与食品工业用途竞争而具有吸引力。

[0005] 现今可利用许多潜在的木质纤维素原料，包括例如农业残渣、木质生物质、城市废物、油籽/油饼以及海草。目前这些材料用作动物饲料、生物堆肥材料、在热电联产设施中燃烧抑或被填埋。

[0006] 木质纤维素生物质包括嵌入半纤维素基质中由木质素围绕着的结晶纤维素原纤维。这样产生了密实基质，所述密实基质难以由酶以及其它化学、生物化学和/或生物方法接近。纤维素生物质材料（即，已除去木质素的生物质材料）更易于由酶和其它转化方法接近，但是即便如此，天然产生的纤维素材料当与水解酶接触时通常具有低产率（相对于理论产率）。木质纤维素生物质甚至更难以受酶攻击。此外，每种类型的木质纤维素生物质具有其自身特定的纤维素、半纤维素和木质素组成。

[0007] 概述

[0008] 总体上，本发明涉及用于将生物质原料（例如，纤维素、淀粉质或木质纤维素材料）转化成有用的初级产物（例如，醇、酸、酯和糖）的系统、方法和过程。本发明还涉及用于将这些初级产物转化成有用的副产物的设备、方法和系统，例如，通过氢解将酯转化成醇（例如，正丁醇、仲丁醇、异丁醇、叔丁醇、乙醇以及任何这些的混合物）。

[0009] 一方面，本发明涉及制备产物的方法。所述方法包括从生物质（例如，糖化生物质）、糖（例如，糖化生物质中的糖）、糖化生物质的糖级分产生一种或多种酸（例如，乙酸、正丁酸、异丁酸），并且将所述一种或多种酸转化成一种或多种酯。所述方法还包括利用催化剂和氢来使所述一种或多种酯氢化以产生一种或多种产物，如醇。任选地，所述一种或多种酸是通过糖化生物质糖的发酵来产生。任选地，糖化生物质糖是通过用一种或多种酶和/或一种或多种酸，如通过首先使用酸并且然后使用所述一种或多种酶来糖化纤维素或木质纤维素生物质材料而产生。所述方法还可进一步包括例如，通过电子束照射，例如将10与200Mrad之间的辐射剂量传送至纤维素或木质纤维素材料来使所述材料的不顺应性降低。任选地，催化剂可包括金属如Pt、Pd、Re、Os、Ru、Rb、Ni、Co、Mo、W、Zn、Cr、Cu、这些的氧化物以及这些的组合。在氢化期间，氢气压力是约5与120个大气压之间，同时利用催化剂以产生一种或多种醇。任选地，所述方法包括在将所述一种或多种酸转化成一种或多种酯（例

如,丁酸乙酯)之前分离至少一种羧酸(例如,丁酸)。任选地,所述方法可用于产生酯,包括丁酸乙酯、丁酸丁酯、丁酸己酯以及丁酸辛酯。所述酯的醇部分可衍生自生物质加工或通过石油化学加工。可通过已知化学方法使羧酸和醇反应以获得酯。

[0010] 本发明的另一方面的特征是一种用于制备产物的方法,所述方法包括将糖化处理的木质纤维素材料的发酵产物转化成酯,并且通过使所述酯通过第一催化剂,例如在氢存在下的催化剂来产生醇。所述方法还可包括使所述酯通过第二催化剂,例如催化剂。第一催化剂和第二催化剂可以是不同种类的催化剂,例如它们可具有不同组成(例如,包括支持体如二氧化硅和 $Al_2O_3$ )。或者,第一和第二催化剂可以是相同种类的催化剂。

[0011] 在一些实施方式中,所述方法包括施加第一压力的氢同时使所述酯通过第一催化剂,并且施加第二压力的氢同时使所述酯通过第二催化剂,其中所述第一压力比所述第二压力高至少0.5个大气压。任选地,所述方法还可包括将第一催化剂加热至第一温度同时使所述酯通过所述第一催化剂,并且将第二催化剂加热至第二温度同时使所述酯通过所述第二催化剂,其中所述第一温度比所述第二温度高至少 $10^{\circ}C$ 。或者,第二反应器的温度可高于第一反应器并且压力可在两个反应器之间增加。任选地,所述第一和第二催化剂可包括在其组成上包括Pt、Pd、Re、Os、Ru、Rb、Ni、Co、Mo、W、Zn、Cr、Cu、这些的氧化物以及这些的组合的金属。任选地,所述方法可包括施加约5与120个大气压之间的氢气压力。或者,所述第一和/或第二催化剂被分类为重整催化剂。

[0012] 在其它实施方式中,发酵产物包含羧酸。任选地,羧酸可具有1至20个碳原子和1至5个羧酸基团(例如,丁酸、天冬氨酸)。任选地,所述发酵产物包含醇。任选地,酯可以是,例如丁酸乙酯、丁酸丙酯、丁酸丁酯、丁酸己酯和丁酸辛酯以及酯的醇和羧酸部分的异构体。即,丁酸和丁酸酯可指代正(n-)和异异构体。所述方法还可包括将生物质发酵成至少两种产物并且转化包括将产物冷凝为酯。例如,可将丁酸和丁醇转化成丁酸丁酯,并且然后反过来氢化成2摩尔的丁醇。

[0013] 在一些实施方式中,所述方法包括在转化产物之前分离发酵产物。任选地,可使发酵产物与树脂相接触并且使所述发酵产物与树脂结合。此外,可通过酸化发酵产物来从树脂中除去发酵产物并且用溶剂(例如,醇)萃取酸化产物。

[0014] 所述方法的一些实施方式包括通过用电子束照射木质纤维素材料来产生处理的木质纤维素材料。例如,可进行照射以实现约10与150Mrad之间的剂量。

[0015] 在一些实施方式中,通过使处理的生物质与酶相接触来使处理的生物质糖化。所述方法可包括:糖化产生包含葡萄糖和木糖的混合物,并且发酵可包括发酵木糖。此外,可将葡萄糖发酵成醇(例如,选择性地而不使木糖发酵),并且任选地可在发酵木糖之前蒸馏醇。任选地,可将木糖添加至糖化处理的材料(例如,除了可从处理的糖化材料获得的木糖之外的木糖)。

[0016] 另一方面,本发明涉及一种产生产物的方法,所述方法包括用第一生物体发酵从处理的木质纤维素材料的糖化产生的第一糖,并且用第二生物体发酵从糖化处理的木质纤维素材料产生的第二糖。此外,任选地在发酵第二糖之前蒸馏第一糖的发酵产物。例如,第一糖可以是葡萄糖并且第二糖可以是木糖。在一些实施方式中,发酵第一糖的产物是醇(例如,乙醇)并且发酵第二糖的产物是羧酸(例如,丁酸)。任选地,所述方法还可包括将木糖添加至糖化材料。任选地,可将以下添加至糖化材料:酸、碱、缓冲剂、氨基酸、维生素、

赤糖糊、强化梭状芽胞杆菌培养基、金属离子、酵母提取物、肉提取物、蔬菜提取物、蛋白胨、碳源、蛋白质、Fe、Mn、Mg、Na、Cu、Zn、对氨基苯甲酸、胆碱、硫胺素、白蛋白、肌醇以及这些的组合。任选地，通过用电子束，例如用约 10 与 200Mrad 之间的剂量照射木质纤维素材料来产生处理的木质纤维素材料。

[0017] 在一些实施方式中，所述方法还包括将来自第二糖的发酵的产物转化成酯。任选地，可将所述酯氢化以产生醇。

[0018] 在一些实施方式中，所述方法包括利用醇提取发酵第二糖的产物，所述醇包括正己醇、正辛醇、正癸醇、正十二醇、月桂醇、肉豆蔻醇、鲸蜡醇、硬脂醇、油醇、亚油醇、这些醇的异构体以及这些的组合。

[0019] 现在将讨论所述方法的一些可能的优点。一些发酵是产物抑制的以使得可限制可产生的所需发酵产物的量。例如，通过一些梭状芽胞杆菌种属将糖发酵成正丁醇通常被限于百分之一或百分之二，因为高于这些水平，它是对生物体抑制性或毒性的。从水性废发酵液中除去这种少量正丁醇可能是具有挑战性的。发酵中正丁醇的中间体是在发酵的产酸相中产生的丁酸。丁酸通常是对梭状芽胞杆菌种属更少抑制性或毒性的，并且因此可以比丁醇更高的浓度积聚，例如 4% -7%。部分由于其较高分子量和其部分离子性质，丁酸还可以是对从发酵液中分离更低挑战性的。丁酸是例如，用于化工、食品、调味、香料和制药工业中的有用产物。也可将丁酸直接氢化成正丁醇。或者，可例如将丁酸酯化成丁酸乙酯并且可在比直接氢化更温和的条件下将此产物氢化成正丁醇和乙醇。除了这些优点之外，来自如本文所述的生物质的衍生产物例如正丁醇不需要与在加工化石燃料中所需的一样多的高能量催化步骤。例如，化石燃料可具有高浓度的化合物，所述化合物必须在裂化之前或期间除去，例如必须通过加氢脱硫除去的硫化合物。通过使用本文所述的方法，将清洁生物质源性的原料提供至用于所述方法中的催化剂（例如，重整催化剂）并且可利用较低温度和压力。

[0020] 根据以下详细说明、并且根据权利要求书，本发明的其它特征和优点将是清楚的。

[0021] 附图描述

[0022] 前述将是如从如在附图中示出的本发明的示例性实施方案的以下更具体的描述清楚的，在附图中相同参考符号贯穿不同视图指代相同部分。附图未必按比例绘制，而是将重点放在示出本发明的实施方案上。

[0023] 图 1 是示出生物质的示例性酶水解的图表。

[0024] 图 2 是示出用于从原料制造糖溶液的方法的流程图。

[0025] 图 3 是示出用于从原料制造糖溶液的方法的流程图，其示出第二发酵。

[0026] 图 4 是示出用于使用丁酸乙酯作为酯将糖转化成醇的反应方案的图表。

[0027] 详述

[0028] 使用本文所述的方法和系统，可将例如可来源于生物质（例如，植物生物质、动物生物质、纸和城市废物生物质）并且通常可容易获得但难以加工的纤维素和木质纤维素原料材料转化成有用产物。包括用于产生有用的初级产物例如醇、酸和糖的方法和系统。本发明还涉及将这些初级产物转化成有用的副产物例如酯和醇（例如，丁醇、乙醇、酯以及这些的混合物）的方法和系统。

[0029] 分解生物质（如生物质的纤维素、半纤维素和 / 或木质素部分）的酶和破坏生物

质的生物体含有或制造各种纤维素分解酶（纤维素酶）、木质素酶、木聚糖酶、半纤维素酶或各种小分子破坏生物质的代谢物。图 1 提供这些破坏生物质的方法的一些实例。纤维素底物由内切葡聚糖酶在随机位置初步水解，从而产生低聚中间体。这些中间体随后被作为外切葡聚糖酶如纤维二糖水解酶的底物，以从纤维素聚合物的末端产生纤维二糖。纤维二糖是水溶性的 1, 4- 连接的葡萄糖二聚体。最后，纤维二糖酶裂解纤维二糖以得到葡萄糖。在半纤维素的情况下，木聚糖酶（例如，半纤维素酶）作用于这种生物聚合物并且释放低聚木糖和木糖作为可能产物。

[0030] 图 2 示出用于从原料（例如，纤维素或木质纤维素材料）制造糖和发酵产物的方法。在初始步骤 (210)，所述方法包括任选地机械处理纤维素和 / 或木质纤维素原料。在此处理之前和 / 或之后，可用另一种物理处理（例如照射、超声处理、蒸汽爆炸、氧化、热解或这些的组合）处理原料 (212)，以降低或进一步降低其不顺应性。通过糖化原料来形成例如包括葡萄糖、木糖以及这些的组的糖溶液 (214)。所述糖化可例如通过按任何次序添加一种或多种酶（例如纤维素酶和木聚糖酶）或一种或多种酶和一种或多种酸来有效地完成 (211)。可对糖溶液进行生物加工 (216)，例如，通过利用生物体来将糖发酵成初级产物，例如，醇、羧酸、酮、氢以及这些的组合。任选地，发酵可包括多于一种生物体并且包括多于一个发酵步骤，例如同时或顺序地产生一种或多种产物。任选地，发酵可以是对一种糖选择性的。可对生物加工步骤的初级产物进行化学加工 (224)。例如，可将羧酸氢化成醇、酯化和 / 或酯化并且然后氢化。氢化可在分批反应器或在连续反应器中发生。任选地，化学加工可包括例如通过柱萃取、溶剂萃取和 / 或通过蒸馏来分离产物。如果需要，可在所述方法的不同阶段进行测量木质素含量的步骤 (218) 以及基于此测量设定或调节工艺参数的步骤 (220)，例如如在 2011 年 2 月 11 日提交的美国申请号 12/704, 519 中所描述，所述申请的完整公开内容以引用的方式并入本文。

[0031] 在类似实施方案中，图 3 与图 2 类似，但具有不同的命名方案。在糖化之后，在步骤 217 发酵混合物以使得仅一种糖被发酵以形成至少第二（未发酵的）糖与发酵固体的混合物内的第一产物。在步骤 225 通过本文所述的任何分离方式来分离第一产物。任选地，可在步骤 232 使发酵固体与至少所述第二（未发酵的）糖分离。在步骤 227 的第二发酵过程将使第二糖转化成第二产物，可在步骤 230 通过本文所述的任何分离方式来分离所述第二产物。第一和第二糖的实例可分别是葡萄糖和木糖，其中葡萄糖在第一发酵步骤中被转化。例如，取决于发酵生物体和 / 或发酵条件，葡萄糖可被转化成乙醇或乳酸。或者，第一糖可以是木糖并且第二糖可以是葡萄糖。在这种情况下，木糖发酵产物是第一产物。

[0032] 图 4 示出用于将糖转化成醇，尤其是丁醇的反应方案的实例。在第一步骤，例如，将木糖发酵成正丁酸。应理解异丁酸也可经历类似的反应方案。在第二步骤，使丁酸与季胺官能化的树脂 Amberlite™ 400 相接触。丁酸酯变得与季胺基团缔合并且在此第二步骤中从溶液中萃取出。在第三步骤中，使树脂和结合的丁酸酯与强酸例如硫酸溶液相接触，其作用是使丁酸酯质子化并且形成游离丁酸。然后可通过乙醇或其它醇萃取丁酸，从而提供在醇溶液中的丁酸。在第四步骤，使丁酸和乙醇（任选地，可添加另外乙醇）与任选地催化剂相接触并且加热（例如，在大气压下加热至约 80°C 至 90°C 的回流温度），以使得发生酯化反应，从而提供丁酸乙酯。在第五步骤，利用氢和催化剂（例如， $\text{Re}/\text{Al}_2\text{O}_3$ ）将丁酸乙酯氢化成丁醇和乙醇。可在适用于氢化的任何反应器中进行氢化步骤。

[0033] 发酵可产生羧酸,例如,如在 2011 年 7 月 7 日提交的 US APPN 13/177827 和 2012 年 11 月 5 日提交的 US APPN 13/668358 中所描述,所述专利的全部公开内容以引用的方式并入本文。羧酸可以是例如,具有 1 至 20 个之间的碳和 1 至 5 个之间的羧酸 ( $-CO_2H$ ) 基团(例如,1 至 10 个碳和 1 至 4 个羧酸基团、1 至 5 个碳和 1 至 3 个羧酸基团)的任何羧酸。例如,可用于本文所述的方法中的一些羧酸是乙酸、丙酸、酒石酸、丙二酸、琥珀酸、戊二酸、己二酸、苯甲酸、邻苯二甲酸、马来酸、葡糖酸、愈伤酸、粘康酸、丁酸(例如,正丁酸、异丁酸)、戊酸、己酸、月桂酸、棕榈酸、硬脂酸以及花生酸。

[0034] 来自生物物质的糖可包括一种或多种糖。例如,一些发酵物种可同时或顺序地消耗多余一种糖。一些发酵物种偏好一种糖。例如,一些生物体可能偏好发酵果糖,如 2012 年 12 月 20 日提交的指定美国并且以英语公布的 PCT 申请号 PCT/US12/71097 中所描述。任选地,可在任何发酵步骤之前对糖溶液进行加工。例如,如通过本文所述的方法制备的糖化溶液可通过以下进行纯化和/或加工:过滤(例如,包括旋转真空转鼓式过滤)、色谱法(例如,模拟移动床色谱法)、电渗析(包括双极性电渗析)、结晶以及这些的组合。任选地,加工可包括发酵两种糖的混合物中的一种糖并且除去发酵产物,从而留下基本上可更容易地利用(例如分离和/或发酵(例如,发酵成羧酸))的第二糖的糖溶液。可利用的用于纯化和/或加工的一些示例性方法在共同未决的美国临时申请序列号 61/774,775、61/774,780 和 61/774,761 中所讨论,所述申请的公开内容以引用的方式并入本文。在一些情况下,生物物质源可提供较高量的基本上仅一种糖,例如一些纸制品、棉花和几乎全部是葡萄糖源(具有很少(如果存在)木糖)的其它生物物质。其它生物物质源可主要提供木糖和/或木质素。

[0035] 用于产生丁酸酯的一些合适的微生物可包括糖丁基丙酮梭菌(*C. saccharobutylacetonicum*)、糖乙酸多丁醇梭菌(*C. saccharoperbutylacetonicum*)、糖丁酸梭菌(*C. saccharobutylicum*)、略紫色梭菌(*C. Punic eum*)、拜氏梭菌(*C. beijernckii*)、丙酮丁醇梭菌(*C. acetobutylicum*)、丙酮丁醇梭菌(*C. acetobutylicum*)、丙酮丁醇梭菌、玫瑰色梭菌(*C. ro seum*)、金黄丁酸梭菌(*C. aurantibutyricum*)、费新尼亚梭菌(*C. felsine um*)和酪丁酸梭菌(*C. tyrobutyricum*)。可能有益的是在发酵期间供给添加剂,例如酸、碱、缓冲剂、氨基酸、维生素、赤糖糊、强化梭状芽胞杆菌培养基(RCM)、金属离子、酵母提取物、塔底馏分、肉提取物、蔬菜提取物、蛋白胨、碳源以及蛋白质。例如,添加 Fe、Mn、Mg、Na、Cu、Zn 以及这些的组合的金属离子可能是有益的。其它添加剂例如对氨基苯甲酸、胆碱、肌醇、硫胺素以及白蛋白可能是有益的。

[0036] 可利用的优选添加剂是来自发酵的糖化木质纤维素或纤维素材料(例如,生物物质)的塔底馏分。例如,如本文所述产生乙醇的糖化材料的酵母发酵液了进行蒸馏以产生塔底馏分。含有酵母细胞和废生物物质(例如,木质素、非发酵的糖、蛋白质)的塔底馏分可用作第二发酵的添加剂。塔底馏分可任选地在使用之前进行纯化,例如,通过本文所述的方法(例如,旋转真空转鼓式过滤器、模拟移动床色谱法以及对模拟移动床色谱法的改进、过滤、沉淀)。固体(例如,溶解和/或悬浮固体)的浓度可以是至少约 5wt.%(例如,至少约 10wt. %、至少约 20wt. %、至少约 20wt. %、至少约 30wt. %、至少约 40wt. %、至少约 50wt. %、至少约 60wt. %、约 10wt. %与 90wt. %之间、约 20wt. %与 60wt. %之间)。塔底馏分可直接用于蒸馏中或它可用溶剂(例如,水)进行稀释并且作为溶剂的至少 5wt. %塔

底馏分使用（例如，至少 10wt. %、至少 20wt. %、至少 30wt. %、至少 40wt. %、约 10wt. % 与 80wt. % 之间、约 10wt. % 与 60wt. % 之间、约 10wt. % 与 50wt. % 之间、约 20wt. % 与 50wt. % 之间、约 20wt. % 与 40wt. % 之间）。塔底馏分添加剂可与如本文所述的其它添加剂和另外的糖（例如，葡萄糖和 / 或木糖）组合使用。

[0037] 在发酵期间，发酵培养基的 pH 可以是用于控制的重要参数。缓冲液，例如，磷酸盐、硫酸盐和乙酸盐缓冲液可帮助维持目标 pH。酸和碱（例如，氢氧化铵、氢氧化钠和氢氧化钾，乙酸、硫酸、磷酸、硝酸）的添加还可在发酵之前、之后和期间添加，以维持和或改变或控制 pH。在发酵期间，pH 最佳地在约 2 与 8 之间（例如，约 3 与 8 之间、约 4 与 8 之间、约 4 与 7 之间）。通过添加碱将 pH 维持在临界值以上，例如在约 3 以上（例如，在约 3.5 以上、在约 4 以上）通常可改进发酵。当使用产酸菌时这种控制可能是特别重要的，因为酸性产物可在发酵期间将 pH 降低至对生物体有毒的值。

[0038] 温度也可是发酵期间的控制和重要参数。最佳地，将温度维持在约 20°C 与 50°C 之间（例如，约 20°C 与 40°C 之间、约 30°C 与 40°C 之间）。在一些实例中，可利用比最佳温度更低或更高的温度以诱导所需的发酵阶段，例如，产酸、产溶剂、对数生长、孢子形成。

[0039] 对于厌氧生物体，优选的是在不存在氧的情况下，例如，在惰性气体如 N<sub>2</sub>、Ar、He、CO<sub>2</sub> 或其混合物的覆盖层下进行发酵。另外，混合物可具有在部分或全部发酵期间流经储罐或生物反应器的惰性气体的恒定吹扫。

[0040] 发酵或糖化生物体可固定在支持体上。例如，此方法的应用描述于美国专利 5,563,069 中。生物体可支持在纤维素或木质纤维素材料上，如描述于美国专利序列号 12/782,543 中，所述专利的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0041] 可通过任何有用的方式从发酵培养基中除去发酵的产物。例如，丁酸和其它发酵产物可通过以下除去 / 纯化：通过将碱添加至发酵溶液、将酸添加至发酵溶液、萃取、过滤、离心、蒸馏、错流过滤、膜过滤、渗透萃取、电渗析、吸附和 / 或结合至树脂或其它固体以及这些方法的组合。任选地，在纯化之后，如果产物是湿的，可例如通过使所述产物与分子筛或其它干燥剂（例如，硫酸钠、硫酸镁）相接触来干燥所述产物。有机酸的萃取方法描述于 2009 年 3 月 27 日提交的美国申请序列号 12935075 中，所述方法包括在水溶液中形成可随后从水相中萃取的烷基胺加合物，所述申请的全部公开内容以引用的方式并入本文。在一个优选的实施方案中，有机酸（例如，丁酸）可通过吸附 / 加合物形成 / 键合到固相支持体例如树脂、固体和 / 或聚合物支持体上来萃取。

[0042] 在一些实施方案中，可从发酵溶液中或从已蒸馏的溶液中直接萃取发酵产物。萃取溶剂可以是例如醇、醚、油（例如，蓖麻油、椰子油、棕榈油）。例如，对于羧酸（例如，丁酸）的萃取，一些特别有用的醇是脂肪醇，例如，具有 6 与 20 个碳和 1 至 5 个醇官能团（例如，正己醇、正辛醇、正癸醇、正十二醇、月桂醇、肉豆蔻醇、鲸蜡醇、硬脂醇、油醇、亚油醇、这些的异构体以及这些的组合）。在萃取之前可通过用无机酸处理含有酸的溶液以将 pH 调节至约 pH 3（例如，约 pH 2 与 4 之间）使酸质子化。

[0043] 可如本文所讨论将酸酯化成酯。还可利用本文所列举的醇来酯化发酵衍生的酸。酯化可在萃取溶液中进行。例如，可将醇添加至萃取溶剂。如果萃取溶剂是醇，则醇可在有或无醇的浓缩或稀释的情况下直接用于酯化。例如，源自生物质的发酵的丁酸可通过将硫酸添加至发酵溶液中来质子化。可随后将丁酸从酸化溶液中蒸馏出。然后可在醇（例如，

正辛醇)中萃取馏分。可将酸催化剂添加至萃取的酸和醇中并且将溶液加热以产生酯。或者,可将发酵溶液酸化并且然后用醇(例如,辛醇)直接萃取。然后可将混合物酯化。

[0044] 在一些实施方案中,用于吸附有机酸(例如,丁酸)的树脂可以是具有离子交换特性的聚合物,例如具有可与酸的酸性质子离子交换的季胺官能团。例如,Amberlite™ IRA 410、Amberlite™ IRA-67、Amberlite™ 96、Amberlite™ XAD-1180M、Amberlite™ XAD-2、Amberlite™ 400 以及 Amberlite™ IRN150。可通过使含有有机酸的溶液穿过离子交换树脂的填充柱(例如,玻璃、金属、塑料)来使所述溶液与所述树脂相接触。任选地,可使含有有机酸的溶液在容器中与树脂组合(例如,以分批模式)并且搅拌(例如,摇动、搅动)持续几分钟至几小时(例如,1分钟至24小时、1分钟至12小时,1分钟至8小时、1分钟至4小时、1分钟至1小时、1小时至4小时、1小时至12小时)。在分批模式中,可在足以用于吸附/键合至少一些有机酸的时间之后从树脂中倾析或过滤有机酸耗尽的溶液。分批分离或柱分离方法中的丁酸的量可通过任何有用的方法进行监测,例如,顶空分析、滴定和 HPLC。

[0045] 可使用于吸附有机酸的树脂在发酵仍然在加工中时或在发酵完成之后与发酵溶液相接触。例如,可将活性发酵培养基泵送通过一系列树脂或可将树脂添加至发酵液中。

[0046] 有机酸可例如通过接触树脂从树脂中除去并且使有机酸与酸溶液结合。例如,酸溶液可包括无机酸(例如,盐酸、硫酸、磷酸、硝酸)或酸可以是有机酸(乙酸、三氟乙酸)。通常优选的是使用具有较低 pKa 的酸,例如,约低于丁酸的 pKa,例如,小于约 4、小于约 3、小于约 2 的 pKa。在酸化之后溶液的 pH 最佳地是在约 1°C 与 6°C 之间(例如,约 2°C 与 5°C 之间、约 2°C 与 4°C 之间)。可能有利的是利用有或无水的溶剂以帮助从树脂中萃取有机酸或有机酸盐。例如,溶剂可以是醇(例如,甲醇、乙醇、丙醇、丁醇或先前所述的脂肪醇)、醚(例如,乙醚、四氢呋喃、甲基叔丁基醚、二异丙醚)、乙腈、丙酮、乙酸丁酯、二甲基甲酰胺、乙酸乙酯以及这些的组合。这些可以任何百分比与水及彼此组合。从树脂填充柱中除去吸附的有机酸的优选方法是用酸化醇(例如,乙醇和/或甲醇和添加的酸)或酸化醇/水溶液(例如,乙醇/水、甲醇/水和添加的酸)洗脱。树脂可在除去酸之后再循环,例如通过用过量酸化溶液冲洗、接着用水(任选地去离子水)冲洗。

[0047] 来自含有羧酸的树脂加工的酸化洗脱液/萃取溶液可通过添加碱来中和。这可产生羧酸盐。可将羧酸盐蒸发至干燥,并且然后烘箱干燥(例如在 80°C 至 100°C 下)。所述盐可随后用于酯化反应中,其中在反应之前任选地再酸化。

[0048] 在酸化以从树脂中除去有机酸的替代方案中,有机酸的酸性质子可通过与阳离子交换而除去以形成有机酸盐。一些有用的交换离子包括,例如季铵离子、碱金属离子和碱土金属离子、过渡金属离子以及这些的组合。因此产生的羧酸盐可如先前所讨论进行进一步加工。

[0049] 如本文所讨论从羧酸形成酯可通过利用任何醇来进行,例如,含有 1 至 20 个碳原子和 1 至 5 个醇基(例如,1 至 10 个碳原子和 1 至 4 个醇基、1 至 10 个碳原子和 1 至 2 个醇基)。一些示例性醇是甲醇、乙醇、丙醇、正丁醇、正己醇、正辛醇、正癸醇、正十二醇、月桂醇、肉豆蔻醇、鲸蜡醇、硬脂醇、油醇、亚油醇、二醇(例如,乙二醇)、三醇(例如,甘油)、多元醇、这些的异构体以及这些的组合。可在有或无稀释溶剂的情况下用过量醇(例如以约 1 至 50 之间的摩尔比)进行酯化。酯化反应可在约 80°C 与 300°C 之间(例如,约 80°C 与 200°C 之间,约 80°C 与 150°C 之间)的温度下和在约 1 至 30 个大气压之间(例如,约 1 与 20

个大气压之间、约 1 与 10 个大气压之间) 的压力下进行。在一些实施方式中, 所利用的醇包括源自糖化木质纤维素或纤维素原料的发酵的醇, 例如, 如本文所述, 可利用乙醇和或丁醇。所述醇还可源自其它可再生糖源和方法, 例如, 所述源可包括来自玉米粒的淀粉和糖、甘蔗、水果、豆类和 / 或甜菜。乙醇和丁醇是可通过本文所述的方法产生的特别有用的醇。所述醇还可从烃源获得。

[0050] 酯化反应通过利用催化剂, 例如酸催化剂来促进。酸催化剂可以是均相或非均相的。一些有用的均相酸催化剂包括硫酸、磷酸、硝酸、盐酸和三氟乙酸。非均相酸催化剂包括树脂或功能化聚合物, 例如磺化聚苯乙烯树脂。酸可以是固体催化剂, 例如, 为沸石、磺化炭、氧化铝、粘土、硅铝酸盐、杂多酸、二氧化硅以及这些的组合。除了催化剂之外或在酯化之后可使用脱水剂, 例如分子筛, 以除去在酯化期间形成的水。其它方法, 例如与甲苯蒸馏为低沸点共沸物可用于除去水。

[0051] 在一些实施方案中, 可在酸 (例如, 丁酸) 结合至用于吸附有机酸的树脂上时将所述酸酯化。然后可将酯萃取至溶剂中, 例如先前所讨论的用于从树脂中除去质子化酸的溶剂。

[0052] 在一些任选的实施方案中, 可利用生物体来制备酯。例如, 可使葡萄球菌与羧酸 (例如, 丁酸) 和醇 (例如, 乙醇) 组合以产生丁酸乙酯。还可利用其它羧酸、醇和生物体组合。可从通过生物体 (例如, 酿酒酵母) 源自糖的酸和醇形成的其它酯包括乙酸异戊酯、己酸乙酯、辛酸乙酯、己酸乙酯、乙酸苯乙酯、月桂酸乙酯、肉豆蔻酸乙酯以及棕榈酸乙酯。

[0053] 可通过任何有用的方法使酯与过量醇、未反应的酸和杂质分离。例如, 蒸馏、色谱法、过滤可能是有用的。如果存在任何过量酸, 则还可通过经过 / 穿过离子交换材料来将所述过量酸除去, 例如, 如先前所描述。所述酯还可简单地用作主要是过量醇的混合物, 例如作为直接燃料或燃料添加剂, 例如, 分配至用于高辛烷燃料和 / 或燃料添加剂的再形成器。作为混合物对化工、食品、调味、香料和制药工业的其它用途是本领域中技术人员显而易见的。

[0054] 通过本文所述的方法产生的有机酸可直接氢化成醇。然而, 直接氢化需要非常高的压力并且催化剂常常快速失活。酯化在允许更温和的条件用于氢解中是有利的。例如, 直接氢化可能需要超过 100 个大气压的压力、高于 300°C 的温度以及仅几小时的催化剂寿命, 之后催化剂需要再生或更换。酯的氢解可在约 100°C 至 300°C (例如, 120°C 至 250°C、150°C 至 300°C) 之间的温度、小于约 120 个大气压 (例如, 约 5 与 120 个大气压之间、约 5 与 60 个大气压之间) 的氢气压力下进行并且催化剂在需要再生和 / 或更换之前可持续至少一小时 (例如, 至少二小时、至少 5 小时、至少 8 小时、至少 16 小时、多于一天、两天、一周、一个月或一年)。

[0055] 在酯的氢解期间考虑的重要参数是产物的转化率和对产物的选择性。转化率可表示为所反应的产物的百分比 (例如, 初始产物 / 最终产物乘以 100%)。转化率还可表示为起始材料 (例如, 酯) 的消耗率。选择性是相较于不想要的产物 (例如, 副产物、分解产物), 所得到的所需产物的量的量度。选择性可表示为百分比, 例如纯度百分比, 或表示为所需产物的形成率对比不需要的产物的形成率 (或所需产物的形成率对比起始材料的消耗率)。一些不想要的产物可以是部分还原产物、低聚物和 / 或热分解产物。虽然并不总是这样, 但通常发现, 存在转化率与选择性之间的反比关系, 因此可能难以快速推动反应以高选

择性完成。

[0056] 在氢解期间利用催化剂。催化剂可包括金属 Pd、Pt、Os、Ru、Rb、Re、Ir、Rh、Ni、Co、Mo、W、Cu、Zn、Cr、这些的氧化物以及这些的组合。在一些情况下,添加 / 组合促进剂或慢化剂物质,包括 Cr、Mn、Pb、Zn、Cd、Ag、Ba、Ca、Mg、Sn、Ni、Co、U、As、Ge 和这些的氧化物以及这些的组合。一种或多种催化剂和一种或多种促进剂可以任何浓度和比例组合。促进剂提高催化剂的性能,例如提高转化率和选择性。

[0057] 催化剂和促进剂可用作本体催化剂(例如,不在支持体上)。本体催化剂可成形为多种形状以增加表面积并且允许反应物在其表面上流动。例如呈以下形式:绒、丝网、栅格、金属丝、具有通道的多孔固体、海绵、珠粒和 / 或粉末。催化剂和促进剂可在用于本体中时进行混合,例如一种或多种催化剂的粉末和一种或多种促进剂的粉末可进行组合 / 混合。金属或具有促进剂物质的金属可有利地吸附和或键合到支持体上。支持体可以是例如氧化铝、氧化硅、硅铝酸盐、粘土、沸石(例如,USY 和  $\beta$  沸石)或其它无机材料。负载型催化剂通常具有约 0.1wt. % 与 10wt. % 之间的每种金属(例如,0.1wt. % 与 1wt. % 之间),但是可使用更高的量。一种或多种金属和一种或多种促进剂可与一种或多种支持体以所有组合进行组合。这些负载型催化剂可被形成为任何方便的形式。

[0058] 催化剂可以是均相催化剂,例如三(三苯基膦)氯化铑(I),和类似的催化剂,其中金属与稳定配体(例如,胺、膦、醇、醚、酮、羧酸酯、乙酰丙酮化物,任选地双、三或四螯合配体,这些的组合)络合。催化剂可以是均相催化剂的聚合物负载的类似物,例如,其中配体连接至聚合物,例如功能化的聚苯乙烯,其中官能团是先前所述的配体。

[0059] 负载型催化剂可通过任何有用的方法来制备,例如,通过使用初湿浸渍法、分解沉淀法、溶液自组装方法和 / 或通过气相沉积 / 分解。例如,利用初湿浸渍法,所需金属前体可溶解或悬浮于类似于支持体的孔体积的一定体积的溶剂中,并且它与支持体结合。催化剂可以是活化的。活化可包括在真空下除去溶剂、煅烧,例如在氧气、氮气、氢气或其它气体存在下以任何次序并且重复地煅烧。催化剂可在促进剂之前、与促进剂一起或在促进剂之后或以添加步骤的组合添加。负载型催化剂可形成为珠粒或挤出为棒和其它形状。通常,这些与粘合剂(例如,惰性陶瓷材料、多孔粘合剂)结合。

[0060] 可在本文用于氢解和酯化反应的一些催化剂、条件、设备和系统描述于:“Catalysis of Organic Reactions”John R. Sowa 编辑, Jr., CRC Press(2005);“Catalytic Naphtha Reforming Second Edition, Revised and Expanded”George J. Antos 和 Abdullah M. Aitani 编辑, Marcel Dekker(2005) 第 6、8 和 9 章;以及“Steam reforming catalysts Natural gas, associated gas and LPG”Johnson Matthey, 第 1-15 页;例如, SnRu 和 SnRePt 的双和三金属负载型催化剂可用于丁酸乙酯的氢解。

[0061] 催化剂可以分批模式用于氢解。例如,酯通常在容器(例如 Parr<sup>TM</sup>反应器)中与溶剂结合。可将容器用氢气喷射和 / 或用氢气加压。容器可配备有加热器(例如,加热套)和搅拌器(例如,螺旋桨、叶轮)。催化剂还可用于流化床反应器中。除了氢和酯之外,这些需要例如惰性气体(例如,氮气、He、Ar)的较高气体流速。催化剂通过穿过反应器的快速气体流动流化。一种或多种催化剂可顺序地或组合(例如,混合在一起)使用。可使用环式反应器,因为其是分批反应器的设计方案,除了使容器中的液体再循环到反应器的外部。如果顺序地使用,则可在不同反应条件例如,温度、压力(例如,氢压力)和 / 或搅拌(例如,

搅动速率)下利用催化剂。这些组合可例如优化通量和组合转化率/选择性。

[0062] 任选地,催化剂用于固定床流动反应器(例如,流动反应器、填充床反应器、滴流床反应器)中。这些反应器被配置为填充有催化剂(例如,本体或负载型催化剂)的柱,反应物(例如,酯和氢)流动通过所述柱。所述柱可例如通过装有加热流体(例如,水、高压水、油)的加热套、蒸汽、电加热器(例如,电阻加热)或任何其它加热装置来加热。还可将柱设计成承受高压,例如至少约 50psi、至少约 100psi、至少约 150psi、至少约 200psi、至少约 300psi、至少约 500psi。柱还可配备有安全设备,例如压力释放阀和高温过程关闭(例如,流动关闭、通风)。任选地,两个或更多个固定床反应器可串联用于反应物的一个流动流(例如,多达 20、多达 10、2 至 5、3 至 10、1 至 3 个)。在一些任选的配置中,一些反应器被绕过例如以使它们保持为备用。具有可用备份是特别有用的,以避免在一个或多个流动反应器不在可接受的参数内操作时(例如,在反应器中的催化剂失活的情况下)的停机时间。利用串联反应器的另一个优点是,可将反应器装有不同的催化剂,例如具有不同的选择性和转化率的催化剂,以获得最佳通量和组合转化率/选择性。还可使柱在不同条件例如流速、压力和温度下运行。例如,可利用两个或更多个柱,其中温度差可以是约 0°C 至 10°C(例如,约 10°C 至 200°C、约 50°C 至 200°C、约 50°C 至 150°C、约 50°C 至 100°C)。此外或可替代地,当使用至少多于一个柱时压力(例如,氢气压力)差可以是约 0 至 5 个大气压(例如,约 5 与 50 个大气压之间、约 10 与 50 个大气压之间、约 30 与 50 个大气压之间)。

[0063] 可使如所描述的氢解催化剂再循环/再生。例如,通常催化剂通过在氧化环境中(例如,在氧存在下)加热至高温例如约 200°C 与 800°C 之间(例如,400°C 至 600°C)来氧化。在用惰性气体(例如,氮气、氩气、氦气)吹扫之后,催化剂在高温下例如约 200°C 与 800°C 之间还原。例如,还原剂可以是使在催化剂上流动的氢气。

[0064] 用于本文所述的方法中的氢气可由例如来自生物质(例如,如本文所述处理的生物质)的厌氧消化的沼气供应。氢气可在其用于氢化之前进行清洁。污染物如一氧化碳被除去。氢气的其它来源包括将氢解反应器系统靠近氢气源定位,所述氢气源包括甲烷、天然气等的管道和蒸汽重整器。

[0065] 使用催化剂,可实现大于约 90%(例如,大于 95%、大于 98%、大于 99%)的总体选择性。总体转化率是 80% 以上(例如,大于约 90%、大于约 95%、大于约 99%)。

[0066] 通过氢解产生的醇可例如通过蒸馏(如果沸点足够不同)来分离。例如,丁酸乙酯、乙醇和丁醇的氢解产物可通过蒸馏分离。所回收的乙醇可再次用于酯化。醇的混合物甚至可在不分离的情况下利用,例如作为直接燃料或燃料添加剂。作为混合物或纯化的分离产物适用于化工、食品、调味、香料和制药工业的其它用途将由本领域中的技术人员认识到。在一些酯的情况下,例如丁酸丁酯,氢解产物是丁醇并且分离方案可用于改进杂质。

[0067] 辐射处理

[0068] 原料可用电子轰击进行处理来改变其结构以降低其不顺应性。所述处理可例如减小原料的平均分子量、改变原料的晶体结构和/或增加原料的表面积和/或孔隙率。

[0069] 通过电子束电子轰击通常是优选的,因为它提供非常高的通量。电子束加速器可例如从 IBA, 比利时和 NHV Corporation, 日本获得。

[0070] 电子轰击可使用电子束装置来进行,所述装置具有小于 10MeV,例如,小于 7MeV、小于 5MeV 或小于 2MeV,例如,约 0.5 至 1.5MeV、约 0.8 至 1.8MeV,或约 0.7 至 1MeV 的标称

能量。在一些实施方式中,标称能量是约 500 至 800keV。

[0071] 电子束可具有相对较高的总波束功率(所有加速头的组合波束功率,或如果使用多个加速器,则为所有加速器和所有头的组合波束功率),例如至少 25kW,例如至少 30、40、50、60、65、70、80、100、125 或 150kW。在一些情况下,功率甚至高达 500kW、750kW 或甚至 1000kW 或更高。在一些情况下,电子束具有 1200kW 或更高的波束功率,例如 1400、1600、1800 或甚至 3000kW。

[0072] 此较高总波束功率通常通过利用多个加速头来实现。例如,电子束装置可包括两个、四个或更多个加速头。使用多个,其每个具有相对较低的波束功率,能防止材料的过度温度上升,从而防止材料燃烧,并且还增加材料层厚度中的剂量的均匀性。

[0073] 通常优选的是生物质材料床具有相对均匀的厚度。在一些实施方案中,所述厚度小于约 1 英寸(例如,小于约 0.75 英寸、小于约 0.5 英寸、小于约 0.25 英寸、小于约 0.1 英寸、约 0.1 与 1 英寸之间、约 0.2 与 0.3 英寸之间)。

[0074] 在一些实施方式中,希望在用电子轰击处理材料期间和之间冷却材料。例如,所述材料可在其例如通过螺旋挤出机、振动式输送机或其它输送设备输送时进行冷却。例如,在输送时冷却描述于美国临时专利申请号 61/774,735 和 61/774,752 中,其中的全部描述内容以引用的方式并入本文。

[0075] 为了减少不顺应性降低过程所需的能量,希望尽可能快地处理材料。一般来说,优选的是以大于约 0.25Mrad/秒,例如,大于约 0.5、0.75、1、1.5、2、5、7、10、12、15 或甚至大于约 20Mrad/秒,例如,约 0.25 至 2Mrad/秒的剂量速率来进行处理。较高剂量速率允许靶(例如所需)剂量的较高通量。较高剂量速率一般需要较高线路速度,以避免材料的热分解。在一种实施方式中,对于约 20mm 的样品厚度(例如,具有 0.5g/cm<sup>3</sup>的堆积密度的粉碎的玉米穗轴材料),将加速器设定为 3MeV、50mA 射束电流并且线速度是 24 英尺/分钟。

[0076] 在一些实施方案中,进行电子轰击直到材料接受至少 0.1Mrad、0.25Mrad、1Mrad、5Mrad,例如至少 10、20、30 或至少 40Mrad 的总剂量。在一些实施方案中,进行处理直到材料接受约 10Mrad 至约 50Mrad,例如约 20Mrad 至约 40Mrad,或约 25Mrad 至约 30Mrad 的剂量。在一些实施方式中,优选 25 至 35Mrad 的总剂量,其理想地(例如)以 5Mrad/次在几秒内施加,其中每次施加持续约一秒。施加大于 7 至 8Mrad/次的剂量可在一些情况下引起原材料的热降解。可在照射之前、之后或期间应用冷却。例如,可利用如描述于以下申请中的冷却方法、系统和设备:美国临时申请号 61/774,735 和美国临时申请号 61/774,754 中,其全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0077] 使用如以上所讨论的多个头,可以分多次,例如由几秒钟的冷却间隔开的 10 至 20Mrad/次(例如 12 至 18Mrad/次)下的两次,或 7 至 12Mrad/次(例如 5 至 20Mrad/次、10 至 40Mrad/次、9 至 11Mrad/次)的三次处理材料。如本文所讨论,用若干相对较低的剂量而不是一个高剂量处理材料倾向于防止材料过热并且还增加贯穿材料厚度的剂量均匀性。在一些实施方式中,在每次期间或之后将材料搅拌或以其它方式混合,并且然后平滑成均匀层,然后再次进行下一次,以进一步增强处理均匀性。

[0078] 在一些实施方案中,电子被加速到例如大于 75% 光速的速度,例如大于 85%、90%、95% 或 99% 光速的速度。

[0079] 在一些实施方案中,本文所述的任何加工发生在获得时就保持干燥或者已例如使

用加热和 / 或减压进行干燥的木质纤维素材料上。例如, 在一些实施方案中, 在 25°C 和 50% 相对湿度下测量得知, 纤维素和 / 或木质纤维素材料具有小于约 25wt. % 保留水 (例如, 小于约 20wt. %、小于约 15wt. %、小于约 14wt. %、小于约 13wt. %、小于约 12wt. %、小于约 10wt. %、小于约 9wt. %、小于约 8wt. %、小于约 7wt. %、小于约 6wt. %、小于约 5wt. %、小于约 4wt. %、小于约 3wt. %、小于约 2wt. %、小于约 1wt. %、小于约 0.5wt. %、小于约 15wt. %)。

[0080] 在一些实施方案中, 使用两种或更多种电子源, 如两种或更多种电离源。例如, 可以任何次序用电子束接着用  $\gamma$  辐射和具有约 100nm 至约 280nm 波长的 UV 光处理样品。在一些实施方案中, 用三种电离辐射源处理样品, 如电子束、 $\gamma$  辐射和高能 UV 光。生物质被输送穿过处理区, 在处理区其可用电子来轰击。

[0081] 可能有利的是重复处理以更充分地降低生物质不顺应性和 / 或进一步改变生物质。具体地说, 取决于材料的不顺应性, 工艺参数可在第一 (例如, 第二、第三、第四或更多) 次之后加以调整。在一些实施方案中, 可使用包括循环系统的输送机, 其中生物质被多次输送穿过以上所述的各种过程。在一些其它实施方案中, 使用多个处理装置 (例如, 电子束发生器) 处理生物质多次 (例如, 2、3、4 或更多次)。在其它实施方案中, 单个电子束发生器可为多个射束 (例如, 2、3、4 或更多个射束) 的来源, 其可用于处理生物质。

[0082] 输送机 (例如振动式输送机) 可由耐腐蚀材料制成。输送机可使用包括不锈钢 (例如, 304、316 不锈钢、HASTELLOY® 合金和 INCON EL® 合金) 的结构材料。例如, 来自 Hynes (Kokomo, Indiana, USA) 的 HASTELLOY® 耐腐蚀合金, 如 HASTELLOY® B-3® 合金、HASTELLOY® HYBRID-BC1® 合金、HASTELLOY® C-4 合金、HASTELLOY® C-22® 合金、HASTELLOY® C-22HS® 合金、HASTELLOY® C-276 合金、HASTELLOY® C-2000® 合金、HASTELLOY® G-30® 合金、HASTELLOY® G-35® 合金、HASTELLOY® N 合金以及 HASTELLOY® ULTIMET® 合金。

[0083] 振动式输送机可包括不粘释放涂层, 例如 TEFLON™ (DuPont, Delaware, USA)。振动式输送机还可包括耐腐蚀涂层。例如, 可由 Metal Coatings Corp (Houston, Texas, USA) 和其它提供的涂层如氟聚合物、XYLAN®、二硫化钼、环氧酚醛、磷酸亚铁金属涂层、聚氨酯 - 高光泽环氧面漆、无机锌、聚四氟乙烯、PPS/Ryton®、氟化乙烯丙烯、PVDF/DYKOR®、ECTFE/HALAR® 以及环氧陶瓷涂层。所述涂层可改进对工艺气体 (例如, 臭氧)、化学腐蚀、点状腐蚀、磨损腐蚀以及氧化的抗性。

[0084] 改变含碳水化合物生物质的分子 / 超分子结构和 / 或降低含碳水化合物的生物质的不顺应性的效力取决于所使用的电子能和所施加的剂量, 而暴露时间取决于功率和剂量。任选地, 调整剂量速率和总剂量以便不会破坏 (例如烧焦或燃烧) 生物质材料。例如, 碳水化合物不应在加工中损坏, 以使得它们可从生物质完整地例如作为单糖释放。

[0085] 在一些实施方案中, 进行处理 (用任何电子源或源的组合) 直到材料接受至少约 0.05Mrad, 例如, 至少约 0.1、0.25、0.5、0.75、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、125、150、175 或 200Mrad 的剂量为止。在一些实施方案中, 进行处理直到材料接受 0.1-100Mrad、1-200、5-200、10-200、5-150、5-150Mrad、5-100、5-50、5-40、

10-50、10-75、15-50、20-35Mrad 之间的剂量为止。

#### [0086] 辐射不透材料

[0087] 本发明可包括在使用辐射不透明材料构造的拱顶和 / 或储槽中加工材料。在一些实施方式中,选择辐射不透材料以便能够防护部件免受具有高能量的 X 射线(短波长)的影响,所述 X 射线会穿透许多材料。设计辐射屏蔽外壳的一个重要因素是所用材料的衰减长度,衰减长度将决定特定材料、材料的共混物或层化结构的所需厚度。衰减长度是辐射被减小至入射辐射的大约  $1/e$  ( $e =$  欧拉数) 倍时的穿透距离。虽然几乎所有的材料在足够厚的情况下都是辐射不透的,但含有高组成百分比(例如,密度)的具有高 Z 值(原子序数)的元素的材料具有较短的辐射衰减长度,并且因此如果使用这类材料,则可提供更薄、更轻的屏蔽。用于辐射屏蔽中的高 Z 值材料的实例是钽和铅。辐射屏蔽中的另一个重要参数是平分距离,平分距离是将使  $\gamma$  射线强度降低 50% 的特定材料的厚度。作为具有 0.1MeV 能量的 X 射线辐射的实例,平分厚度对于混凝土是约 15.1mm 并且对于铅是约 0.2.7mm,而在 1MeV 的 X 射线能量的情况下,平分厚度对于混凝土是约 44.45mm 并且对于铅是约 7.9mm。辐射不透材料可以是厚的或薄的材料,只要其能够减小穿过至另一侧的辐射即可。因此,如果希望特定外壳具有较小壁厚,例如,对于轻质来说或由于尺寸限制,所选择的材料应具有足够的 Z 值和 / 或衰减长度,以使得其平分长度小于或等于所需的外壳壁厚。

[0088] 在一些情况下,辐射不透材料可以是层化材料,例如具有较高 Z 值材料的层,以提供良好屏蔽,和较低 Z 值材料的层,以提供其它特性(例如,结构完整性、耐冲击性等)。在一些情况下,层化材料可以是“分级 Z”层压件,例如包括其中各个层提供从高 -Z 连续地至较低 -Z 元素的梯度的层压件。在一些情况下,辐射不透材料可以是连锁块,例如,铅和 / 或混凝土块可由 NELCO Worldwide (Burlington, MA) 提供,并且可使用如描述于美国临时申请号 61/774,744 中的可重构的拱顶。

[0089] 辐射不透材料可使穿过由所述材料形成的结构(例如,墙壁、门、天花板、外壳、一系列这些或这些的组合)的辐射与入射辐射相比减少至少约 10% (例如,至少约 20%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 96%、至少约 97%、至少约 98%、至少约 99%、至少约 99.9%、至少约 99.99%、至少约 99.999%)。因此,由辐射不透材料制成的外壳可使设备 / 系统 / 部件的暴露减少相同量。辐射不透材料可包括不锈钢、具有高于 25 的 Z 值的金属(例如,铅、铁)、混凝土、泥土、砂及其组合。辐射不透材料可包括在入射辐射的方向上至少约 1mm (例如,5mm、10mm、5cm、10cm、100cm、1m、10m) 的屏障。

#### [0090] 辐射源

[0091] 辐射类型决定着所使用的辐射源以及辐射装置和相关设备的种类。本文所述的例如用于用辐射处理材料的方法、系统和设备可利用如本文中所述的源以及任何其它有用的源。

[0092]  $\gamma$  射线源包括放射性核,如钴、钙、镅、铬、镓、铟、碘、铁、氦、钷、钷、铀以及氡的同位素。

[0093] X 射线源包括电子束与金属靶(如钨或钼或合金)的碰撞或紧凑光源,如由 Lyncean 商业化生产的那些。

[0094]  $\alpha$  粒子等同于是氦原子核,并且是由各种放射性核的  $\alpha$  衰变产生,所述放射性核

诸如铍、钋、砷、氦、钫、镭、一些锕系元素（如锕、钍、铀、镎、钷、铈、镧和钷）的同位素。

[0095] 紫外辐射源包括氙灯或镉灯。

[0096] 红外辐射源包括蓝宝石、锌或硒化物窗口陶瓷灯。

[0097] 微波源包括速调管、Slevin 型 RF 源或使用氢气、氧气或氮气的原子束源。

[0098] 用于加速粒子（例如电子或离子）的加速器可以是 DC（例如静电 DC 或电动 DC）、RF 线性波、磁感应线性波或连续波。例如，各种照射装置可在本文所公开的方法中使用，包括场电离源、静电离子分离器、场电离发生器、热离子发射源、微波放电离子源、再循环或静止加速器、动态线性加速器、范德格拉夫 (van de Graaff) 加速器、考克饶夫特瓦尔顿 (Cockroft Walton) 加速器（例如，PELLETRON®加速器）、直线加速器 (LINAC)、高频高压加速器 (Dynamitron)（例如，DYNAMITRON®加速器）、回旋加速器 (cyclotron)、同步加速器 (synchrotron)、电子感应加速器 (betatron)、变压器型加速器、电子回旋加速器 (microtron)、等离子体发生器、级联加速器以及折叠式串列加速器。例如，回旋型加速器可从 IBA, Belgium 获得，如 RHODOTRON™系统，而 DC 型加速器可从 RDI（现在是 IBA Industrial）获得，如 DYNAMITRON®。其它适合的加速器系统包括例如：DC 绝缘心型变压器 (ICT) 型系统，可从 Nissin High Voltage, 日本获得；S- 波段直线加速器，可从 L3-PSD（美国）、Linac Systems（法国）、MeveX（加拿大）以及 Mitsubishi Heavy Industries（日本）获得；L- 波段直线加速器，可从 Iotron Industries（加拿大）获得；以及基于 ILU 的加速器，可从 Budker Laboratories（俄罗斯）获得。离子和离子加速器讨论于以下文献中：Introductory Nuclear Physics, Kenneth S. Krane, John Wiley&Sons, Inc. (1988), Krsto Prelec, FIZIKA B 6(1997)4, 177-206；Chu, William T., “Overview of Light-Ion Beam Therapy”, Columbus-Ohio, ICRU-IAEA 会议, 2006 年 3 月 18-20 日；Iwata, Y. 等, “Alternating-Phase-Focused IH-DTL for Heavy-Ion Medical Accelerators”, Proceedings of EPAC 2006, Edinburgh, Scotland；以及 Leitner, C. M. 等, “Status of the Superconducting ECR Ion Source Venus”, Proceedings of EPAC 2000, Vienna, Austria。一些粒子加速器及其用途公开于例如 Medoff 的美国专利号 7, 931, 784 中，所述专利的完整公开内容以引用的方式并入本文。

[0099] 电子可由经历  $\beta$  衰变的放射性核产生，如碘、铯、钨和铀的同位素。或者，电子枪可通过热离子发射而用作电子源并且通过加速电势进行加速。电子枪产生电子，通过大的电势（例如，大于约 50 万、大于约 100 万、大于约 200 万、大于约 500 万、大于约 600 万、大于约 700 万、大于约 800 万、大于约 900 万或甚至大于 1000 万伏特）使所述电子加速，并且然后在 x-y 平面上对其进行磁力扫描，其中最初使电子沿加速器管向下在 z 方向上加速并通过箔窗口提取。在照射输送穿过扫描射束的材料例如生物质时，扫描电子束适用于增加照射表面。扫描电子束也使热载荷均匀分布于窗口上并且帮助减少由于电子束的局部加热所致的箔窗口破裂。窗口箔破裂由于随后的必要修复和重新启动电子枪而造成显著停机时间。

[0100] 电子束可用作辐射源。电子束具有高剂量速率（例如 1、5 或甚至 10Mrad/秒）、高通量、较小的容量和较小的密封设备的优点。电子束还可具有高电效率（例如，80%），从而允许相对于其它辐射方法的较低能量使用，这可转化为与所使用的较少量的能量相对应

的较低操作成本和较低温室气体排放。电子束可例如由静电发生器、级联发生器、互感发生器、具有扫描系统的低能量加速器、具有线性阴极的低能量加速器、线性加速器和脉冲加速器来产生。

[0101] 电子还可(例如)通过断链机制更有效地引起含碳水化合物的材料的分子结构的改变。此外,具有 0.5–10MeV 能量的电子可穿透低密度材料,如本文所述的生物质材料,例如,具有小于 0.5g/cm<sup>3</sup> 堆积密度和 0.3–10cm 深度的材料。作为电离辐射源电子可适用于例如相对薄的材料堆、层或床,例如,小于约 0.5 英寸,例如,小于约 0.4 英寸、0.3 英寸、0.25 英寸或小于约 0.1 英寸。在一些实施方案中,电子束的各个电子的能量是约 0.3MeV 至约 2.0MeV(兆电子伏特),例如约 0.5MeV 至约 1.5MeV,或约 0.7MeV 至约 1.25MeV。照射材料的方法讨论于 2011 年 10 月 18 日提交的美国专利申请公布 2012/0100577 A1 中,所述专利申请的整个公开内容以引用的方式并入本文。

[0102] 电子束照射装置可商业上获得或制造获得。例如,元件或部件如感应器、电容器、壳体、电源、电缆、电线、电压控制系统、电流控制元件、绝缘材料、微控制器和冷却设备可购买并且安装到装置中。任选地,可改变和/或适配商业装置。例如,装置和部件可购自本文所述的任何商业来源,包括 Ion Beam Applications(Louvain-la-Neuve, 比利时)、Wasik Associates Inc. (Dracut, MA)、NHV Corporation(日本)、Titan Corporation(San Diego, CA)、Vivirad High Voltage Corp(Billerica, MA)和/或 Budker Laboratories(俄国)。典型的电子能量可以是 0.5MeV、1MeV、2MeV、4.5MeV、7.5MeV 或 10MeV。典型的电子束照射装置功率可以是 1kW、5kW、10kW、20kW、50kW、60kW、70kW、80kW、90kW、100kW、125kW、150kW、175kW、200kW、250kW、300kW、350kW、400kW、450kW、500kW、600kW、700kW、800kW、900kW 或甚至 1000kW。可使用的加速器包括 NHV 照射器中等能量系列 EPS-500(例如 500kV 加速器电压和 65、100 或 150mA 射束电流)、EPS-800(例如 800kV 加速器电压和 65 或 100mA 射束电流)或 EPS-1000(例如 1000kV 加速器电压和 65 或 100mA 射束电流)。此外,可使用来自 NHV 的高能量系列的加速器,如 EPS-1500(例如 1500kV 加速器电压和 65mA 射束电流)、EPS-2000(例如 2000kV 加速器电压和 50mA 射束电流)、EPS-3000(例如 3000kV 加速器电压和 50mA 射束电流)以及 EPS-5000(例如 5000 和 30mA 射束电流)。

[0103] 考虑电子束照射装置功率规格的权衡因素包括操作成本、投资成本、折旧和装置占地面积。考虑电子束照射的暴露剂量水平的权衡因素是能量成本和环境、安全和健康(ESH)相关方面。通常,发生器容纳于例如铅或混凝土的拱顶中,特别是对于从在所述过程中产生的 X 射线来产生。考虑电子能量的权衡因素包括能量成本。

[0104] 电子束照射装置可产生固定射束或扫描射束。具有大的扫描扫掠长度和高扫描速度的扫描射束可能是有利的,因为这将有效地代替大的、固定的射束宽度。此外,可获得 0.5m、1m、2m 或更大的可用扫掠宽度。由于较大扫描宽度和局部加热和窗口故障可能性减少,扫描射束在本文描述的大多数实施方案中是优选的。

[0105] 电子枪 - 窗口

[0106] 用于电子加速器的提取系统可包括两个窗口箔。窗口箔描述于国际申请号 PCT/US2013/064332(其于 2013 年 10 月 10 日提交)中,其全部公开内容以引用的方式并入本文。两箔窗口提取系统中的冷却气体可以是吹扫气体或混合物(例如,空气)或纯气体。在一个实施方案中,气体是惰性气体,如氮气、氩气、氦气和或二氧化碳。优选使用气体而不是流

体,因其使电子束的能量损失最小化。还可使用纯气体的混合物,在撞击窗口之前在管线中或在窗口之间的空间中预混合抑或混合。可例如通过使用热交换系统(例如,冷冻器)和/或通过使用来自冷凝气体(例如,液氮、液氩)的汽化对冷却气体进行冷却。

[0107] 当使用外壳时,还可用惰性气体吹扫封闭的输送机,以便将大气维持在降低的氧水平下。使氧水平保持较低避免了臭氧的形成,在一些情况下臭氧由于其反应性和毒性性质是不希望的。例如,氧可低于约 20% (例如,低于约 10%、低于约 1%、低于约 0.1%、低于约 0.01% 或甚至低于约 0.001% 的氧)。可用惰性气体进行吹扫,所述惰性气体包括但不限于氮气、氩气、氦气或二氧化碳。这可由例如液态来源(例如,液氮或液氩)的汽化供应,从空气中就地产生或分离,或由储罐供应。惰性气体可再循环并且可使用催化剂(如铜催化剂床)去除任何残余氧。或者,可进行吹扫、再循环和氧去除的组合以使氧水平保持较低。

[0108] 也可用可与生物质反应的反应性气体吹扫外壳。这可在照射过程之前、期间或之后进行。反应性气体可以是但不限于:一氧化二氮、氨、氧、臭氧、烃、芳香族化合物、酰胺、过氧化物、叠氮化物、卤化物、卤氧化物、磷化物、膦、胂、硫化物、硫醇、硼烷和/或氢化物。可在外壳中例如通过照射(例如,电子束、UV 照射、微波照射、加热、IR 辐射)活化反应性气体,以使其与生物质反应。可例如通过照射活化生物质本身。优选地,生物质通过电子束活化,以产生自由基,自由基然后例如通过自由基偶合或淬灭与活化或未活化的反应性气体反应。

[0109] 供应至封闭的输送机中的吹扫气体也可冷却到例如约 25°C 以下、约 0°C 以下、约 -40°C 以下、约 -80°C 以下、约 -120°C 以下。例如,气体可由压缩气体(如液氮)汽化或者由固态二氧化碳升华而成。作为替代性实例,可通过冷冻器冷却气体,或者可冷却部分或整个输送机。

[0110] 辐射处理过程中的加热和通量

[0111] 当来自电子束的电子与物质在非弹性碰撞中相互作用时,在生物质中可发生几种过程。例如,材料的电离,材料中聚合物的断链,材料中的聚合物的交联,材料的氧化,X 射线的产生(“韧致辐射”)和分子的振动激发(例如声子产生)。不受特定机制束缚,不顺应性降低可能是由于这些非弹性碰撞作用中的几种,例如电离、聚合物的断链、氧化和声子产生所致。这些作用中的一些(例如,尤其是 X 射线产生)使屏蔽和工程屏障成为必需,例如,在混凝土(或其它辐射不透材料)拱顶中封闭照射过程。另一种照射作用,即振动激发,等效于加热样品。通过照射来加热样品可有助于降低不顺应性,但过度加热可能会破坏材料,如将在下文解释。

[0112] 来自吸附电离辐射的绝热温升( $\Delta T$ )由以下等式给出: $\Delta T = D/C_p$ :其中 D 是平均剂量(kGy), $C_p$  是热容(J/g°C),并且  $\Delta T$  是温度变化(°C)。典型的干燥生物质材料将具有接近 2 的热容。取决于水的量,湿生物质将具有更高的热容量,因为水的热容量非常高(4.19J/g°C)。金属具有低得多的热容量,例如 304 不锈钢具有 0.5J/g°C 的热容量。针对不同辐射剂量,生物质和不锈钢中由于即时辐射吸附所致的温度变化在以下示出。

[0113] 针对生物质和不锈钢计算的温度增加

[0114]

剂量 (Mrad)	估算的生物物质 $\Delta T(^{\circ}\text{C})$	钢 $\Delta T(^{\circ}\text{C})$
10	50	200
50	250, 分解	1000
100	500, 分解	2000
150	750, 分解	3000
200	1000, 分解	4000

[0115] 高温会破坏和 / 或改变生物物质中的生物聚合物, 以使得所述聚合物 (例如纤维素) 不适合于进一步加工。经受高温的生物物质可能变成黑的、粘的并且释放指示分解的气味。这种粘性甚至可能使材料难以输送。所述气味可能是难闻的并且是一个安全问题。事实上, 已发现将生物物质保持在约  $200^{\circ}\text{C}$  以下在本文所述的方法中是有益的 (例如约  $190^{\circ}\text{C}$  以下、约  $180^{\circ}\text{C}$  以下、约  $170^{\circ}\text{C}$  以下、约  $160^{\circ}\text{C}$  以下、约  $150^{\circ}\text{C}$  以下、约  $140^{\circ}\text{C}$  以下、约  $130^{\circ}\text{C}$  以下、约  $120^{\circ}\text{C}$  以下、约  $110^{\circ}\text{C}$  以下、约  $60^{\circ}\text{C}$  与  $180^{\circ}\text{C}$  之间、约  $60^{\circ}\text{C}$  与  $160^{\circ}\text{C}$  之间、约  $60^{\circ}\text{C}$  与  $150^{\circ}\text{C}$  之间、约  $60^{\circ}\text{C}$  与  $140^{\circ}\text{C}$  之间、约  $60^{\circ}\text{C}$  与  $130^{\circ}\text{C}$  之间、约  $60^{\circ}\text{C}$  与  $120^{\circ}\text{C}$  之间、约  $80^{\circ}\text{C}$  与  $180^{\circ}\text{C}$  之间、约  $100^{\circ}\text{C}$  与  $180^{\circ}\text{C}$  之间、约  $120^{\circ}\text{C}$  与  $180^{\circ}\text{C}$  之间、约  $140^{\circ}\text{C}$  与  $180^{\circ}\text{C}$  之间、约  $160^{\circ}\text{C}$  与  $180^{\circ}\text{C}$  之间、约  $100^{\circ}\text{C}$  与  $140^{\circ}\text{C}$  之间、约  $80^{\circ}\text{C}$  与  $120^{\circ}\text{C}$  之间)。

[0116] 已发现, 高于约  $10\text{Mrad}$  的照射对于本文描述的方法来说是所希望的 (例如降低不顺应性)。高通量也是所希望的, 以使得照射不会成为加工生物物质中的瓶颈。处理受剂量速率方程控制:  $M = FP/D * \text{时间}$ , 其中  $M$  是所照射材料的质量 ( $\text{Kg}$ ),  $F$  是所吸附的功率分数 (无单位),  $P$  是所发射功率 ( $\text{KW} = \text{以 MeV 计的电压} * \text{以 mA 计的电流}$ ), 时间是处理时间 (秒), 并且  $D$  是所吸附剂量 ( $\text{KGy}$ )。在其中吸附的功率分数为固定的、所发射的功率是恒定的并且需要设定的剂量的示范性方法中, 通量 (例如,  $M$ , 所加工的生物物质) 可通过增加照射时间来增加。然而, 增加照射时间而不使材料冷却可能过度地加热材料, 如通过以上所示的计算所例证。由于生物物质具有低热导率 (小于约  $0.1\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ ), 所以散热很慢, 不像例如金属 (大于约  $10\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ ), 金属可快速地消散能量, 只要存在散热器来转移能量即可。

[0117] 电子枪 - 射束阻挡件

[0118] 在一些实施方案中, 系统和方法包括射束阻挡件 (例如, 光闸)。例如, 可使用射束阻挡件快速停止或减少材料的照射而不用关掉电子束装置。或者, 可在打开电子束时使用射束阻挡件, 例如射束阻挡件可阻挡电子束直到实现所需水平的射束电流。射束阻挡件可置于主要箔窗口与次要箔窗口之间。例如, 可安装射束阻挡件以使得其是可移动的, 即, 以使得其可移入和移出射束路径。甚至可使用射束的部分覆盖件, 例如以控制照射的剂量。射束阻挡件可安装到地板上、安装到生物物质的输送机上、安装到墙壁上、安装到辐射装置 (例如, 在扫描盒 (scan horn) 处) 上或者安装到任何结构支撑件上。优选地, 相对于扫描盒固定射束阻挡件, 以使得可通过射束阻挡件有效地控制射束。射束阻挡件可合并铰链、轨道、轮子、狭槽或允许其以移入和移出射束的方式操作的其它装置。射束阻挡件可由任何材料制成, 所述材料将阻挡至少  $5\%$  的电子, 例如至少  $10\%$ 、 $20\%$ 、 $30\%$ 、 $40\%$ 、 $50\%$ 、 $60\%$ 、 $70\%$ 、

至少 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或甚至约 100% 的电子。

[0119] 射束阻挡件可由金属制成,所述金属包括但不限于不锈钢、铅、铁、钼、银、金、钛、铝、锡、或这些的合金,或用所述金属制成的层压件(层化材料)(例如,金属涂覆的陶瓷、金属涂覆的聚合物、金属涂覆的复合物、多层金属材料)。

[0120] 可例如用冷却流体(如水溶液或气体)冷却射束阻挡件。射束阻挡件可以是部分或完全中空的,例如具有空腔。射束阻挡件的内部空间可用于冷却流体和气体。射束阻挡件可具有任何形状,包括扁平、弯曲、圆形、椭圆形、正方形、矩形、斜面以及楔形形状。

[0121] 射束阻挡件可具有穿孔,以便允许一些电子通过,从而控制(例如,降低)窗口的全部面积上或窗口的特定区域中的辐射水平。射束阻挡件可以是例如由纤维或线缆形成的网。可一起或独立使用多个射束阻挡件来控制照射。射束阻挡件可例如通过无线电信号远程控制或者硬接线至发动机以将射束移入或移出位置。

[0122] 生物质材料

[0123] 木质纤维素材料包括但不限于木材、刨花板、林业废弃物(例如,锯屑、白杨木、木屑)、草(例如,柳枝稷、芒草、绳草、草芦)、谷物残渣(例如,稻壳、燕麦壳、小麦壳、大麦壳)、农业废弃物(例如,青贮饲料、菜籽秆、小麦秆、大麦秆、燕麦秆、稻草、黄麻、大麻、亚麻、竹子、剑麻、蕉麻、玉米穗轴、玉米秸秆、大豆秸秆、玉米纤维、苜蓿、干草、椰子毛)、糖加工残渣(例如,甘蔗渣、甜菜浆、龙舌兰渣)、海藻、海草、粪肥、污水,以及任何这些的混合物。

[0124] 在一些情况下,木质纤维素材料包括玉米穗轴。研磨或锤磨碾磨的玉米穗轴可以相对均匀厚度的层散布以用于照射,并且在照射之后易于分散于介质中以进行进一步加工。为了促进收获和收集,在一些情况下使用整个玉米植株,包括玉米秸秆、玉米粒,并且在一些情况下甚至包括植株的根系。

[0125] 有利地,在玉米穗轴或含有大量玉米穗轴的纤维素或木质纤维素材料的发酵期间不需要另外营养物(除了氮源,例如,尿素或氨以外)。

[0126] 玉米穗轴在粉碎之前和之后也更易于输送和分散,并且与如干草和草的其它纤维素或木质纤维素材料相比,具有较小的在空气中形成爆炸混合物的倾向。

[0127] 纤维素材料包括例如纸、纸制品、废纸、纸浆、着色纸、装料纸、涂覆纸、填充纸、杂志、印刷品(例如,书、目录、手册、标签、日历、贺卡、宣传册、内容说明书、新闻用纸)、打印纸、涂塑纸(polycoated paper)、卡片坯料、卡纸板、纸板、具有高 $\alpha$ -纤维素含量的材料如棉花,以及任何这些材料的混合物。例如,纸制品如美国申请号 13/396,365(2012年2月14日提交的 Medoff 等的“Magazine Feedstocks”)中所描述,所述申请的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0128] 纤维素材料还可包括已部分或完全脱木素的木质纤维素材料。

[0129] 在一些实例中,可使用其它生物质材料,例如淀粉质材料。淀粉质材料包括淀粉本身,例如玉米淀粉、小麦淀粉、马铃薯淀粉或大米淀粉、淀粉衍生物或包括淀粉的材料,如可食用的食品产品或作物。例如,淀粉质材料可以是秘鲁胡萝卜、荞麦、香蕉、大麦、木薯、葛藤、圆齿酢酱草、西米、高粱、普通家用马铃薯、甜薯、芋头、山药或一种或多种豆类,如蚕豆、扁豆或豌豆。任何两种或更多种淀粉质材料的共混物也是淀粉材料。还可使用淀粉、纤维

素和或木质纤维素材料的混合物。例如,生物质可以是整个植株、植株的一部分或植株的不同部分,例如,小麦植株、棉花植株、玉米植株、水稻植株或树。可通过本文所述的任何方法处理淀粉质材料。

[0130] 微生物材料包括但不限于含有或能够提供碳水化合物(例如,纤维素)源的任何天然存在或遗传修饰的微生物或生物体,例如原生生物,例如动物原生生物(例如,原生动物,如鞭毛虫、变形虫、纤毛虫和孢子虫)和植物原生生物(例如,海藻,如囊泡虫(alveolate)、绿蜘蛛藻(chlorarachniophytes)、隐藻(cryptomonad)、裸藻(euglenid)、灰藻(glaucophyte)、定鞭藻(haptophyte)、红藻、原生藻菌(stramenopiles)以及绿色植物界(viridiaeplantae))。其它实例包括海草、浮游生物(例如,大型浮游生物、中型浮游生物、小型浮游生物、微型浮游生物、超微型浮游生物以及超微微型浮游生物)、浮游植物、细菌(例如,革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌以及极端微生物)、酵母和/或这些的混合物。在一些情况下,微生物生物质可从天然来源获得,例如海洋、湖泊、水体例如咸水或淡水,或在陆地上。或者或此外,微生物生物质可从培养系统获得,例如大规模干燥和湿润培养和发酵系统。

[0131] 在其它实施方案中,生物质材料,如纤维素、淀粉质和木质纤维素原料材料,可从已相对于野生型品种修饰的转基因微生物和植物获得。这类修饰可以是例如通过选择和育种的迭代步骤来获得植物中的所需性状。此外,植物可已经相对于野生型品种将遗传物质移除、修饰、沉默和/或添加。例如,遗传修饰的植物可通过重组DNA方法来产生,其中遗传修饰包括引入或修饰来自亲本品种的特定基因;或者例如通过使用转基因育种来产生,其中将一个或多个特定基因从不同物种的植物和/或细菌中引入到植物中。产生遗传变异的另一种方式是通过突变育种,其中新的等位基因从内源性基因人工产生。人工基因可通过多种方式来产生,包括用例如化学诱变剂(例如,使用烷化剂、环氧化物、生物碱、过氧化物、甲醛)、照射(例如,X射线、 $\gamma$ 射线、中子、 $\beta$ 粒子、 $\alpha$ 粒子、质子、氘核、UV辐射)和温度冲击或其它外部应力以及随后的选择技术来处理植株或种子。提供修饰的基因的其他方法是通过易错PCR和DNA改组,随后将所需的修饰的DNA插入到所需植株或种子中。在种子或植株中引入所需遗传变异的方法包括例如使用细菌载体、基因枪、磷酸钙沉淀、电穿孔、基因剪接、基因沉默、脂质转染、显微注射以及病毒载体。另外遗传修饰的材料已描述于2012年2月14日提交的美国申请序列号13/396,369中,所述申请的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0132] 可使用本文所述的任何生物质材料的混合物来实践本文所述的任何方法。

[0133] 生物质材料制备 - 机械处理

[0134] 生物质可呈干燥形式,例如具有小于约35%的水分含量(例如,小于约20%、小于约15%、小于约10%、小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2%或甚至小于约1%)。生物质还可在湿润状态下例如作为湿固体、具有至少约10wt.%的固体(例如,至少约20wt.%、至少约30wt.%、至少约40wt.%、至少约50wt.%、至少约60wt.%、至少约70wt.%)的浆液或悬浮液传送。

[0135] 本文公开的方法可利用低堆积密度材料,例如已物理预处理成具有小于约0.75g/cm<sup>3</sup>,例如,小于约0.7、0.65、0.60、0.50、0.35、0.25、0.20、0.15、0.10、0.05或更小,例如,小于约0.025g/cm<sup>3</sup>的堆积密度的纤维素或木质纤维素原料。使用ASTM D1895B确定堆积密

度。简单地说,所述方法包括用样品填充具有已知体积的量筒并且获得样品重量。堆积密度通过用样品重量(克)除以已知的量筒体积(立方厘米)来计算。如果需要,可例如通过 Medoff 的美国专利号 7,971,809 中所述的方法对低堆积密度材料进行致密化,所述专利的全部公开内容特此以引用的方式并入。

[0136] 在一些情况下,预处理加工包括筛选生物质材料。可通过具有所需开口尺寸的网或多孔板进行筛选,所述开口尺寸例如小于约 6.35mm(1/4 英寸,0.25 英寸)(例如,小于约 3.18mm(1/8 英寸,0.125 英寸)、小于约 1.59mm(1/16 英寸,0.0625 英寸)、小于约 0.79mm(1/32 英寸,0.03125 英寸)、例如小于约 0.51mm(1/50 英寸,0.02000 英寸)、小于约 0.40mm(1/64 英寸,0.015625 英寸)、小于约 0.23mm(0.009 英寸)、小于约 0.20mm(1/128 英寸,0.0078125 英寸)、小于约 0.18mm(0.007 英寸)、小于约 0.13mm(0.005 英寸),或甚至小于约 0.10mm(1/256 英寸,0.00390625 英寸))。在一种配置中,所需生物质通过穿孔或筛网掉落,并且因此不照射大于穿孔或筛网的生物质。这些较大材料可例如通过粉碎来重新加工,或其可简单地从加工中去除。在另一种配置中,照射大于穿孔的材料并且通过筛选方法来去除较小材料或将其再循环。在此类配置中,输送机本身(例如输送机的一部分)可为有穿孔的或用网制成。例如,在一个具体实施方案中,生物质材料可以是湿的并且穿孔或网允许在照射之前将水从生物质中排出。

[0137] 材料的筛选还可通过手动方法,例如通过去除不想要的材料的操作员或机械体(例如,配备有颜色、反射率或其它传感器的机器人)进行。筛选还可通过磁筛选进行,其中将磁铁安置在输送的材料附近并且通过磁力去除磁性材料。

[0138] 任选的预处理加工可包括加热材料。例如,输送机的一部分可穿过加热区。加热区可例如通过 IR 辐射、微波、燃烧(例如,气体、煤、油、生物质)、电阻性加热和/或感线圈来产生。可从至少一个侧面或多于一个侧面施加热量,热量可以是连续的或周期性的,并且可仅用于部分材料或者用于所有材料。例如,可通过使用加热套来加热输送槽的一部分。加热可例如出于使材料干燥目的。在干燥材料的情况下,在加热或不加热的情况下,这还可通过在正在输送生物质时,气体(例如,空气、氧气、氮气、He、CO<sub>2</sub>、氩气)在生物质上和/或穿过所述生物质的移动来促进。

[0139] 任选地,预处理加工可包括使材料冷却。冷却材料描述于 Medoff 的美国专利号 7,900,857 中,所述专利的公开内容以引用的方式并入本文。例如,可通过将冷却流体,例如水(例如,与甘油一起)或氮(例如,液氮)供应至输送槽的底部来进行冷却。或者,可将冷却气体,例如冷冻氮气吹送到生物质材料上或输送系统下。

[0140] 另一种任选的预处理加工方法可包括将材料添加至生物质。另外的材料可例如通过在输送生物质时将材料喷淋、喷洒和或倾倒至生物质来添加。可添加的材料包括例如金属、陶瓷和/或离子,如美国专利申请公布 2010/0105119 A1(2009 年 10 月 26 日提交)和美国专利申请公布 2010/0159569 A1(2009 年 12 月 16 日提交)中所描述,所述专利申请的全部公开内容以引用的方式并入本文。可添加的任选材料包括酸和碱。可添加的其它材料是氧化剂(例如,过氧化物、氯酸盐)、聚合物、可聚合单体(例如,含有不饱和键)、水、催化剂、酶和/或生物体。可例如以纯的形式、作为在溶剂(例如,水或有机溶剂)中的溶液和/或作为溶液来添加材料。在一些情况下,溶剂是挥发性的并且可例如通过加热和/或吹送如先前所述的气体使其蒸发。添加的材料可在生物质上形成均匀涂层或者为不同组分(例

如,生物质和另外的材料)的均匀混合物。添加的材料可通过增加照射效率、衰减照射或改变照射效果(例如,从电子束至X射线或加热)来调节随后的照射步骤。所述方法可不影响照射,但是可适用于进一步的下游加工。添加的材料可例如通过降低灰尘水平来有助于输送材料。

[0141] 生物质可通过皮带输送机、气动输送机、螺旋输送机、料斗、管、手动或者通过这些的组合传送至输送机(例如,用于本文所述的拱顶中的振动式输送机)。可通过任何这些方法将生物质例如掉落、倾倒和/或放置到输送机上。在一些实施方案中,使用封闭的材料分配系统将材料传送至输送机以帮助维持低氧气氛和/或控制粉尘和细粉。漂浮的或空气悬浮的生物质细粉和粉尘是不希望的,因为这些可形成爆炸隐患或损害电子枪的窗口箔(如果所述装置用于处理材料)。

[0142] 可将材料平整以形成如下均匀厚度:约0.0312与5英寸之间(例如,约0.0625与2.000英寸之间、约0.125与1英寸之间、约0.125与0.5英寸之间、约0.3与0.9英寸之间、约0.2与0.5英寸之间、约0.25与1.0英寸之间、约0.25与0.5英寸之间)。

[0143] 一般来说,优选尽可能快地将材料输送穿过电子束以使通量最大化。例如,可以至少1英尺/分钟,例如至少2英尺/分钟、至少3英尺/分钟、至少4英尺/分钟、至少5英尺/分钟、至少10英尺/分钟、至少15英尺/分钟、20、25、30、35、40、45、50英尺/分钟的速率输送材料。输送速率与射束电流相关,例如对于1/4英寸厚的生物质和100mA,输送机可以约20英尺/分钟移动以提供有用的照射剂量,在50mA下,输送机可以约10英尺/分钟移动以提供大约相同的照射剂量。

[0144] 在已输送生物质材料穿过辐射区之后,可进行任意的后处理加工。任意的后处理加工可以是例如相对于预照射加工所描述的方法。例如,生物质可筛选、加热、冷却和/或与添加剂组合。对于后照射独特的是可发生自由基的淬灭,例如通过添加流体或气体(例如,氧气、一氧化二氮、氨、液体)、使用压力、加热和或添加自由基清除剂进行自由基的淬灭。例如,可将生物质输送出封闭的输送机并将其暴露于气体(例如,氧气),其在所述气体中淬灭,从而形成羧基化基团。在一个实施方案中,生物质在照射期间暴露于反应性气体或流体。已照射的物质的淬灭在Medoff的美国专利号8,083,906中描述,所述专利的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0145] 如果需要,则可使用除照射之外的一种或多种机械处理以进一步减小含碳水化合物材料的不顺应性。可在照射之前、期间和或之后应用这些方法。

[0146] 在一些情况下,机械处理可包括如通过粉碎(例如切割、研磨、剪切、磨粉或斩切)来初始制备所接收的原料,例如材料的尺寸缩减。例如,在一些情况下,通过剪切或切割来制备疏松原料(例如,再生纸、淀粉质材料或柳枝稷)。机械处理可减小含碳水化合物材料的堆积密度、增加含碳水化合物材料的表面积和/或降低含碳水化合物材料的一个或多个尺寸。

[0147] 或者或此外,可用另一种处理来处理原料材料,例如化学处理,如用酸(HCl、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)、碱(例如KOH和NaOH)、化学氧化剂(例如,过氧化物、氯酸盐、臭氧),照射、蒸汽爆炸、热解、超声处理、氧化、化学处理。所述处理可按任何次序和任何顺序和组合。例如,原料材料可首先通过一种或多种处理方法,例如化学处理(包括酸水解和与酸水解(例如利用HCl、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)组合)、辐射、超声处理、氧化、热解或蒸汽爆炸进行物理处理,并且然

后进行机械处理。这个顺序可以是有利的,因为通过一种或多种其它处理(例如照射或热解)进行处理的材料倾向于更易碎,并且因此可更易于通过机械处理进一步改变材料的结构。作为另一个实例,可如本文所述使用输送机将原料材料输送通过电离辐射并且然后进行机械处理。化学处理可去除一些或所有木质素(例如化学制浆)并且可使材料部分或完全水解。所述方法还可用于预先水解的材料。所述方法还可用于未预先水解的材料。所述方法可用于水解材料和未水解材料的混合物,例如具有约 50%或更多的未水解材料、具有约 60%或更多的未水解材料、具有约 70%或更多的未水解材料、具有约 80%或更多的未水解材料或甚至具有 90%或更多的未水解材料。

[0148] 除了尺寸缩减(可在加工期间初期和/或后期进行)之外,机械处理还可有利地“打开”、“压紧”、破坏或破碎含碳水化合物材料,从而使材料的纤维素在物理处理期间更易于断链和/或晶体结构破裂。

[0149] 机械处理含碳水化合物材料的方法包括例如碾磨或研磨。可使用例如锤磨机、球磨机、胶体磨、圆锥或锥形磨、盘磨机、轮碾机、威利磨(Wiley mill)、谷物碾磨机或其它磨进行碾磨。可使用例如切割/冲击型研磨机进行研磨。一些示范性研磨机包括石料研磨机、销棒研磨机、咖啡研磨机以及磨盘式研磨机。研磨或碾磨可例如通过使销棒或其它元件往复移动来提供,在销棒碾磨机中就是这样。其它机械处理方法包括机械撕破或撕裂、对纤维施加压力的其它方法以及空气摩擦碾磨。合适的机械处理进一步包括继续进行由先前加工步骤引发的材料内部结构破裂的任何其它技术。

[0150] 机械供料制备系统可被配置成产生具有特定特征(例如像特定最大尺寸、特定长宽比或特定表面积比)的流。物理制备可提高反应速率、改进材料在输送机上的移动、改进材料的照射分布、改进材料的辐射均匀度、或减少打开材料并使其对于方法和/或试剂(如溶液中的试剂)更易接近所需要的加工时间。

[0151] 可控制(例如,增加)原料的堆积密度。在一些情况下,可能希望例如通过使材料致密化(例如,致密化可使将其运输到另一个地点更容易并且成本更低),并且随后使材料恢复到较低堆积密度状态(例如,在运输之后)来制备低堆积密度材料。可使材料致密化,例如从小于约 0.2g/cc 至大于约 0.9g/cc(例如,小于约 0.3g/cc 至大于约 0.5g/cc、小于约 0.3g/cc 至大于约 0.9g/cc、小于约 0.5g/cc 至大于约 0.9g/cc、小于约 0.3g/cc 至大于约 0.8g/cc、小于约 0.2g/cc 至大于约 0.5g/cc)。例如,可通过在 Medoff 的美国专利号 7,932,065 和国际公布号 WO 2008/073186(2007 年 10 月 26 日提交,以英语公布并且指定美国)中公开的方法和设备来使材料致密化,所述专利的全部公开内容以引用的方式并入本文。可通过本文所述的任何方法来加工致密化的材料,或由本文所述的任何方法加工的任何材料可随后致密化。

[0152] 在一些实施方案中,待加工的材料呈纤维材料形式,其包括通过剪切纤维源来提供的纤维。例如,可用旋转刀切割机来进行剪切。

[0153] 例如,可例如在旋转刀切割机中剪切例如具有不顺应性的或不顺应性水平已降低的纤维源,以提供第一纤维材料。使第一纤维材料通过例如具有 1.59mm 或更小(1/16 英寸,0.0625 英寸)的平均开孔尺寸的第一筛网,以提供第二纤维材料。如果需要,可在剪切之前例如用切碎机切割纤维源。例如,当使用纸作为纤维源时,可首先使用切碎机,例如反相旋转螺旋切碎机(如由 Munson(Utica, N. Y.) 制造的那些)将纸切割成例如 1/4-英寸至

1/2- 英寸宽的条。作为切碎的替代方案,可通过使用闸刀式切割机切割至所需尺寸来减小纸的尺寸。例如,闸刀式切割机可用于将纸切割成例如 10 英寸宽 ×12 英寸长的片。

[0154] 在一些实施方案中,剪切纤维源和使所得第一纤维材料通过第一筛网是同时进行的。还可以在分批型过程中进行剪切和通过。

[0155] 例如,旋转刀切割机可用于同时剪切纤维源和筛选第一纤维材料。旋转刀切割机包括料斗,所述料斗可装载有通过切碎纤维源制备的切碎的纤维源。

[0156] 在一些实施方式中,在糖化和 / 或发酵之前对原料进行物理处理。物理处理方法可包括一种或多种本文所述的任何那些方法,如机械处理、化学处理、照射、超声处理、氧化、热解或蒸汽爆炸。处理方法可以两种、三种、四种或甚至所有这些技术的组合使用(以任意顺序)。当使用多于一种处理方法时,所述方法可同时或不同时应用。改变生物质原料的分子结构的其它方法也可单独使用或与本文所公开的方法组合使用。

[0157] 可使用的机械处理以及机械处理的含碳水化合物材料的特征在 2011 年 10 月 18 日提交的美国专利申请公布 2012/0100577 A1 中进一步详细描述,所述专利申请公布的全部公开内容特此以引用的方式并入本文。

[0158] 超声处理、热解、氧化、蒸汽爆炸

[0159] 如果需要,代替照射或除照射之外,可使用一种或多种超声处理、热解、氧化或蒸汽爆炸方法,以减小或进一步减小含碳水化合物材料的不顺应性。例如,可在照射之前、期间和或之后应用这些方法。这些方法在 Medoff 的美国专利号 7,932,065 中详细描述,所述专利的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0160] 处理的生物质材料的使用

[0161] 使用本文所述的方法,起始生物质材料(例如,植物生物质、动物生物质、纸以及城市废物生物质)可用作原料以产生有用的中间体和产物如有机酸、有机酸的盐、酸酐、有机酸的酯和燃料,例如用于内燃机的燃料或用于燃料电池的原料。本文描述了可使用纤维素和 / 或木质纤维素材料作为原料的系统和方法,所述纤维素和 / 或木质纤维素材料容易获得但可能常常难以加工,例如城市废物流和废纸流,如包括报纸、牛皮纸(Kraft)、瓦楞纸或这些的混合物的流。

[0162] 为了将原料转化成可被容易加工的形式,可通过糖化剂(例如酶或酸)将原料中的含有葡聚糖或木聚糖的纤维素水解成低分子量碳水化合物如糖,所过过程被称为糖化。然后,低分子量碳水化合物可用于例如现有制造厂中,如单细胞蛋白质厂、酶制造厂或燃料厂,例如,乙醇制造设施。

[0163] 原料可使用酶,例如通过在溶剂例如水溶液中将材料与酶组合来进行水解。

[0164] 或者,可通过生物体供应酶,所述生物体分解生物质(如生物质的纤维素和 / 或木质素部分),含有或制造各种纤维分解酶(纤维素酶)、木质素酶或各种小分子生物质降解代谢物。这些酶可以是协同作用降解生物质的结晶纤维素或木质素部分的酶复合物。纤维素分解酶的实例包括:内切葡聚糖酶、纤维二糖水解酶和纤维二糖酶( $\beta$ -葡萄糖苷酶)。

[0165] 在糖化期间,纤维素底物可通过内切葡聚糖酶在随机位置初步水解,从而产生低聚中间体。这些中间体随后被作为外切葡聚糖酶如纤维二糖水解酶的底物,以从纤维素聚合物的末端产生纤维二糖。纤维二糖是水溶性的 1,4-连接的葡萄糖二聚体。最后,纤维二糖酶裂解纤维二糖以得到葡萄糖。此过程的效率(例如,水解时间和 / 或水解完全性)取

决于纤维素材料的不顺应性。

#### [0166] 中间体和产物

[0167] 使用本文所述的方法,可将生物质材料转化成一种或多种产物,如能量、燃料、食品以及材料。产物的具体实例包括但不限于氢、糖(例如,葡萄糖、木糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖、果糖、二糖、寡糖以及多糖)、醇(例如,一元醇或二元醇,如乙醇、正丙醇、异丁醇、仲丁醇、叔丁醇或正丁醇)、水合醇或含水醇(例如,含有大于10%、20%、30%或甚至大于40%的水)、生物柴油、有机酸、烃(例如,甲烷、乙烷、丙烷、异丁烯、戊烷、正己烷、生物柴油、生物汽油以及其混合物)、副产物(例如,蛋白质,如纤维素分解蛋白质(酶)或单细胞蛋白质),以及呈任何组合或相对浓度,并且任选地与任何添加剂(例如,燃料添加剂)组合的任何这些产物的混合物。其它实例包括羧酸、羧酸的盐、羧酸与羧酸的盐的混合物以及羧酸的酯(例如,甲基、乙基和正丙基酯)、酮(例如,丙酮)、醛(例如,乙醛)、 $\alpha$ 和 $\beta$ 不饱和酸(例如,丙烯酸)以及烯烃(例如,乙烯)。其它醇和醇衍生物包括丙醇、丙二醇、1,4-丁二醇、1,3-丙二醇、糖醇(例如,赤藓醇、乙二醇、甘油、山梨醇、苏糖醇阿糖醇、核糖醇、甘露醇、半乳糖醇、岩藻糖醇、艾杜醇、异麦芽酮糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇、木糖醇以及其它多元醇)以及任何这些醇的甲基或乙基酯。其它产物包括丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸甲酯、D-或L-乳酸、柠檬酸、甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、琥珀酸、戊酸、己酸、3-羟基丙酸、棕榈酸、硬脂酸、草酸、丙二酸、戊二酸、油酸、亚油酸、乙醇酸、 $\gamma$ -羟基丁酸以及其混合物、任何这些酸的盐、任何酸及其相应盐的混合物。

[0168] 以上产物与彼此和/或以上产物与其它产物(所述其它产物可通过本文所述的方法或以其它方式制备)的任何组合可包装在一起并且作为产品来出售。产物可组合,例如,混合、共混或共同溶解,或可简单地包装在一起或一起出售。

[0169] 本文所述的任何产物或产物的组合可在出售产物之前,例如,纯化或分离之后或甚至在包装之后进行消毒或灭菌,以中和可存在于产物中的一种或多种可能不希望的污染物。可用例如小于约20Mrad,例如约0.1至15Mrad、约0.5至7Mrad或约1至3Mrad剂量的电子轰击进行所述消毒。

[0170] 本文所述的方法可产生适用于产生在工厂的其它部分使用(热电联产)或在公开市场上出售的蒸汽和电力的各种副产物流。例如,由燃烧副产物流产生的蒸汽可用于蒸馏过程。作为另一个实例,由燃烧副产物流产生的电力可用于为在预处理中使用的电子束发生器提供动力。

[0171] 用于产生蒸汽和电力的副产物来源于整个过程的众多来源。例如,废水的厌氧消化可产生甲烷含量高的沼气和少量废弃生物质(污泥)。作为另一个实例,可使用糖化后和/或蒸馏后固体(例如,从预处理和初级过程剩余的未转化的木质素、纤维素和半纤维素),例如作为燃料燃烧。

[0172] 包括食品和药物产品的其它中间体和产物描述于2010年5月20日公布的Medoff的美国专利申请公布2010/0124583 A1中,所述专利申请公布的全部公开内容特此以引用的方式并入。

#### [0173] 木质素源性产物

[0174] 来自通过所描述的方法进行的木质纤维素加工的废生物质(例如,废木质纤维素材料)预期具有较高的木质素含量,并且除了适用于通过在热电厂中燃烧来产生能量之外

还可具有作为其它有价值的产物的用途。例如，木质素可以捕获形式用作塑料，或它可以合成方式升级成其它塑料。在一些实例中，它还可转化成木质素磺酸盐，木质素磺酸盐可用作粘合剂、分散剂、乳化剂或螯合剂。

[0175] 当用作粘合剂时，木质素或木质素磺酸盐可例如用于煤块中，用于陶瓷中，用于粘合炭黑、用于粘合肥料和除草剂，用作粉尘抑制剂，用于制备胶合板和刨花板，用于粘合动物饲料，用作玻璃纤维的粘合剂，用作油毡贴的粘合剂和用作土壤稳定剂。

[0176] 作为分散剂，木质素或木质素磺酸盐可用于例如混凝土混合物、粘土和陶瓷、染料和颜料、皮革鞣制和石膏板中。

[0177] 作为乳化剂，木质素或木质素磺酸盐可用于例如沥青、颜料和染料、农药以及蜡乳液中。

[0178] 作为螯合剂，木质素或木质素磺酸盐可用于例如微量营养素系统、洗涤剂和水处理系统中，例如用于锅炉和冷却系统。

[0179] 对于能量产生，木质素通常具有比全纤维素（纤维素和半纤维素）更高的能量含量，因为它含有比全纤维素更多的碳。例如，相较于全纤维素的 7,000 与 8,000BTU/ 磅，干燥木质素可具有介于约 11,000 与 12,500BTU/ 磅之间的能量含量。如此，木质素可被致密化并且转化成压块和球团以用于燃烧。例如，木质素可通过本文所述的任何方法转化成球团。对于较慢燃烧的球团或压块，可使木质素进行交联，如施加约 0.5Mrad 与 5Mrad 之间的辐射剂量。交联可得到较慢燃烧的形状因子。可在不存在空气的情况下通过热解，例如在 400°C 与 950°C 之间将形状因子如球团或压块转化成“合成煤”或活性炭。在热解之前，可能希望使木质素交联以维持结构完整性。

[0180] 使用废生物质热电联产描述于 2013 年 3 月 8 日提交的美国临时申请 61/774, 773 中，其中的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0181] 照射后的生物质加工

[0182] 在照射之后，可将生物质转移至容器以用于糖化。或者，可在糖化步骤之前照射生物质之后对生物质进行加热。加热装置可例如通过 IR 辐射、微波、燃烧（例如，气体、煤、油、生物质）、电阻性加热和 / 或感线圈来产生。可从至少一个侧面或多于一个侧面施加热量，热量可以是连续的或周期性的，并且可仅用于部分材料或者用于所有材料。可将生物质在可具有酸或碱存在的含水液体中加热至高于 90°C 的温度。例如，可将含水生物质浆料加热至 90°C 至 150°C，或者 105°C 至 145°C，任选地 110°C 至 140°C，或进一步任选地 115°C 至 135°C。将含水生物质混合物保持在峰值温度下的时间是 1 至 12 小时，或者 1 至 6 小时，任选地在峰值温度下 1 至 4 小时。在一些实例中，含水生物质混合物是酸性的并且 pH 在 1 与 5 之间，任选地 1 至 4 或可替代地 2 至 3。在其它实例中，含水生物质混合物是碱性的并且 pH 在 6 与 13 之间，或者 8 至 12 或任选地 8 至 11。

[0183] 糖化

[0184] 处理的生物质材料通常可通过将材料与纤维素酶在流体介质（例如水溶液）中组合来进行糖化。在一些情况下，在糖化之前，将材料在热水中煮沸、浸泡或蒸煮，如 2012 年 4 月 26 日公布的 Medoff 和 Masterman 的美国专利申请公布 2012/0100577 A1 中所描述，所述专利申请公布的全部内容并入本文。

[0185] 糖化过程可在制造厂中的储罐（例如，具有至少 4000、40,000L 或 500,000L 体积

的储罐)中部分或完全地进行,和/或可在转运中,例如,在轨道车、油罐卡车中或在超级油轮或船舱中部分或完全地进行。完全糖化所需要的时间将取决于工艺条件和所使用的含碳水化合物材料和酶。如果糖化是在受控的条件下在制造厂中进行,则纤维素可在约 12-96 小时内大致上完全转化成糖,例如葡萄糖。如果糖化是在转运中部分或完全地进行,则糖化可能花费较长时间。

[0186] 通常优选在糖化期间例如使用喷射混合对储罐内容物进行混合,如在 2010 年 5 月 18 日提交的国际申请号 PCT/US2010/035331 中所描述,所述申请以英语公布为 WO 2010/135380 并且指定美国,所述申请的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0187] 表面活性剂的添加可提高糖化速率。表面活性剂的实例包括非离子型表面活性剂(如 Tween® 20 或 Tween® 80 聚乙二醇表面活性剂)、离子型表面活性剂或两性表面活性剂。

[0188] 通常优选由糖化得到的糖溶液的浓度相对较高,例如,大于 40 重量%,或大于 50 重量%、60 重量%、70 重量%、80 重量%、90 重量%或甚至大于 95 重量%。可例如通过蒸发去除水以增加糖溶液的浓度。这减小了待装运的体积并且还抑制了溶液中的微生物生长。

[0189] 或者,可使用较低浓度的糖溶液,在这种情况下,可能希望以低浓度(例如,50 至 150ppm)添加抗微生物添加剂,例如广谱抗生素。其它适合的抗生素包括两性霉素 B、氨苄青霉素、氯霉素、环丙沙星、庆大霉素、潮霉素 B、卡那霉素、新霉素、青霉素、嘌呤霉素、链霉素。抗生素将在运输和储存期间抑制微生物的生长,并且可以适当的浓度(例如,按重量计在 15 与 1000ppm 之间,例如,在 25 与 500ppm 之间,或在 50 与 150ppm 之间)使用。如果希望,则即使糖浓度相对较高也可包括抗生素。或者,可使用具有抗微生物防腐特性的其它添加剂。优选地,抗微生物添加剂是食品级的。

[0190] 可通过限制与酶一起添加到含碳水化合物材料中的水量来获得相对较高浓度的溶液。可例如通过控制糖化发生到何种程度来控制浓度。例如,可通过向溶液中添加更多含碳水化合物材料来增加浓度。为了保持正在溶液中产生的糖,可添加表面活性剂,例如,上文所论述的那些表面活性剂中一种。还可通过增加溶液的温度来增加溶解度。例如,可将溶液维持在 40°C -50°C、60°C -80°C 或甚至更高的温度下。

[0191] 糖化剂

[0192] 合适的纤维素分解酶包括来自以下属中的种的纤维素酶:芽孢杆菌属、鬼伞属、毁丝霉属、头孢霉属、柱顶孢霉属、青霉属、曲霉属、假单孢菌属、腐质霉属、镰刀菌属、梭孢壳属、枝顶孢属、金孢子菌属以及木霉属;特别是由选自以下种的菌株产生的那些纤维素酶:曲霉属(参见,例如,欧洲公布号 0458162)、特异腐质霉(*Humicola insolens*) (被重新分类为嗜热柱顶孢霉(*Scytalidium thermophilum*),参见例如美国专利号 4,435,307)、灰盖鬼伞(*Coprinus cinereus*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、嗜热毁丝霉(*Myceliophthora thermophila*)、大型亚灰树花菌(*Meripilus giganteus*)、太瑞斯梭孢壳霉(*Thielavia terrestris*)、枝顶孢属菌种(*Acremonium* sp.) (包括但不限于桃色枝顶孢(*A. persicinum*)、*A. acremonium*、*A. brachyphenium*、*A. dichromosporum*、*A. obclavatum*、*A. pinkertoniae*、粉灰枝顶孢(*A. roseogriseum*)、*A. incoloratum* 以及棕色枝顶孢(*A. furatum*))。优选菌株包括特异腐质霉 DSM 1800、尖孢镰刀菌 DSM 2672、嗜热毁丝霉 CBS 117.65、头孢霉属 RYM-202、枝顶孢属 CBS 478.94、枝顶孢属 CBS 265.95、

桃色枝顶孢 CBS 169.65、Acremonium acremonium AHU 9519、头孢霉属 CBS 535.71、Acremonium brachyphenium CBS 866.73、Acremonium dichromosporum CBS 683.73、Acremonium obclavatum CBS 311.74、Acremonium pinkertoniae CBS 157.70、粉灰枝顶孢 CBS 134.56、Acremonium incoloratum CBS 146.62, 以及棕色枝顶孢 CBS 299.70H。纤维素分解酶还可以从金孢子菌属 (Chrysosporium), 优选 Chrysosporium lucknowense 的菌株获得。可使用的另外菌株包括但不限于, 木霉属 (特别是绿色木霉 (*T. viride*)、里氏木霉 (*T. reesei*) 以及康宁木霉 (*T. koningii*))、嗜碱性芽孢杆菌 (alkalophilic *Bacillus*) (参见, 例如美国专利号 3,844,890 和欧洲公布号 0 458 162) 以及链霉菌属 (参见, 例如欧洲公布号 0 458 162)。

[0193] 除了酶之外或与酶组合, 酸、碱和其它化学品 (例如氧化剂) 可用于糖化木质纤维素和纤维素材料。这些可以任何组合或顺序使用 (例如, 在添加酶之前、之后和 / 或期间)。例如, 可使用强无机酸 (例如, HCl、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 和强碱 (例如, NaOH、KOH)。

#### [0194] 糖

[0195] 在本文所述的方法中, 例如在糖化之后, 可对糖 (例如, 葡萄糖和木糖) 进行分离。例如, 可通过沉淀法、结晶法、色谱法 (例如, 模拟的移动床色谱法、高压色谱法)、离心法、萃取法、本领域已知的任何其它分离方法以及其组合来对糖进行分离。

#### [0196] 氢化和其它化学转化

[0197] 本文所述的方法可包括氢化。例如, 葡萄糖和木糖可分别氢化成山梨糖醇和木糖醇。可通过在高压 (例如, 10 至 12000psi) 下与 H<sub>2</sub> 组合使用催化剂 (例如, Pt/ $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Ru/C、雷尼镍或本领域已知的其它催化剂) 来实现氢化。可使用来自本文所述方法的产物的其它类型的化学转化, 例如有机糖衍生的产物 (例如, 糠醛和糠醛衍生的产物) 的产生。糖衍生的产物的化学转化描述于 2012 年 7 月 3 日提交的美国临时申请号 61/667,481 中, 其全部公开内容以引用的方式整体并入本文。

#### [0198] 发酵

[0199] 酵母和发酵单胞菌属 (*Zymomonas*) 细菌, 例如, 可用于将一种或多种糖发酵或转化成一种或多种醇。其它微生物在下文进行讨论。发酵的最佳 pH 是约 pH 4 至 7。例如, 酵母的最佳 pH 是约 pH 4 至 5, 而发酵单胞菌的最佳 pH 是约 pH 5 至 6。典型的发酵时间是约 24 至 168 小时 (例如, 24 至 96 小时), 其中温度在 20°C 至 40°C (例如, 26°C 至 40°C) 的范围内, 然而嗜热微生物偏好较高的温度。

[0200] 在一些实施方案中, 例如, 当使用厌氧生物体时, 至少一部分发酵是在不存在氧的情况下, 例如, 在惰性气体如 N<sub>2</sub>、Ar、He、CO<sub>2</sub> 或其混合物的覆盖层下进行。另外, 混合物可具有在部分或全部发酵期间流经储罐的惰性气体的恒定吹扫。在一些情况下, 可通过发酵期间的二氧化碳产生来实现或维持厌氧条件而不需要额外的惰性气体。

[0201] 在一些实施方案中, 可在低分子量糖完全转化成产物 (例如, 乙醇) 之前中断全部或部分发酵过程。中间体发酵产物包括高浓度的糖和碳水化合物。糖和碳水化合物可经由本领域已知的任何手段进行分离。这些中间体发酵产物可用于制备用于人或动物消耗的食品。另外或可替代地, 可在不锈钢实验室磨机中将中间体发酵产物研磨成细小粒子尺寸以产生面粉状物质。可在发酵期间使用射流混合, 并且在一些情况下在同一储罐中进行糖化和发酵。

[0202] 可在糖化和 / 或发酵期间添加微生物的营养物,例如,在 2011 年 7 月 15 日提交的美国专利申请公布 2012/0052536 中所述的基于食品的营养物包,所述专利申请公布的完整公开内容以引用的方式并入本文

[0203] “发酵”包括在国际申请号 PCT/US2012/071097(所述申请于 2012 年 12 月 20 日提交,以英语公布为 W0 2013/096700 并且指定美国)和国际申请号 PCT/US2012/071083(所述申请于 2012 年 12 月 20 日提交,以英语公布为 W0 2013/096693 并且指定美国)中所公开的方法和产物,所述两个申请的内容均以引用的方式整体并入本文。

[0204] 可利用移动发酵罐,如在国际申请号 PCT/US2007/074028(其在 2007 年 7 月 20 日提交,以英语公布为 W02008/011598 并且指定美国)中所描述,并且具有美国颁布的专利号 8,318,453,所述申请的内容以引用的方式整体并入本文。类似地,糖化设备可以是可移动的。此外,糖化和 / 或发酵可以在转运期间部分或完全地进行。

[0205] 发酵剂

[0206] 在发酵中使用的微生物可以是天然存在的微生物和 / 或工程化的微生物。例如,微生物可以是细菌(包括但不限于,例如纤维素分解细菌)、真菌(包括但不限于,例如酵母)、植物、原生生物,例如,原生动物或真菌样原生动物(包括但不限于,例如,粘菌)或海藻。当生物体相容时,可使用生物体的混合物。

[0207] 合适的发酵微生物具有将碳水化合物(如葡萄糖、果糖、木糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖、寡糖或多糖)转化成发酵产物的能力。发酵微生物包括以下种属的菌株:酵母属菌种(*Saccharomyces* spp.)(包括但不限于酿酒酵母(*S. cerevisiae*)(面包酵母)、糖化酵母(*S. distaticus*)、葡萄汁酵母(*S. uvarum*)、克鲁维酵母(*Kluyveromyces*)属(包括但不限于马克斯克鲁维酵母(*K. marxianus*)、脆壁克鲁维酵母(*K. fragilis*))、假丝酵母(*Candida*)属(包括但不限于假热带假丝酵母(*C. pseudotropicalis*)和芸薹假丝酵母(*C. brassicae*))、树干毕赤酵母(*Pichia stipitis*)(休哈塔假丝酵母(*Candida shehatae*)的亲缘菌)、棒孢酵母(*Clavispora*)属(包括但不限于葡萄牙棒孢酵母(*C. lusitaniae*)和仙人掌棒孢酵母(*C. opuntiae*))、管囊酵母(*Pachysolen*)属(包括但不限于嗜鞣管囊酵母(*P. tannophilus*))、酒香酵母(*Bretanomyces*)属(包括但不限于,例如铁红梅氏酒香酵母(*B. clausenii*)(*Handbook on Bioethanol: Production and Utilization*, Wyman, C. E. 编, Taylor&Francis, Washington, DC, 179-212 中的 Philippidis, G. P., 1996, *Cellulose bioconversion technology*))。其它适合的微生物包括例如运动发酵单胞菌(*Zymomonas mobilis*)、梭菌属菌种(*Clostridium* spp.)(包括但不限于热纤维梭菌(*C. thermocellum*)(Philippidis, 1996, 同上)、糖丁基丙酮梭菌(*C. saccharobutylaceticum*)、酪丁酸梭菌(*C. tyrobutyricum*)、糖丁酸梭菌(*C. saccharobutylicum*)、略紫色梭菌(*C. Puniceum*)、拜氏梭菌(*C. beijerinckii*)以及丙酮丁醇梭菌(*C. acetobutylicum*))、丛梗孢酵母属菌种(*Moniliella* spp.)(包括但不限于丛梗孢酵母(*M. pollinis*)、绒毛丛梗孢酵母(*M. tomentosa*)、马迪达丛梗孢酵母(*M. madida*)、黑色丛梗孢酵母(*M. nigrescens*)、*M. oedocephali*、*M. megachiliensis*)、解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)、短梗霉属菌种(*Aureobasidium* sp.)、三型孢菌属菌种(*Trichosporonoides* sp.)、变异三角酵母(*Trigonopsis variabilis*)、毛孢子菌属菌种(*Trichosporon* sp.)、丛梗孢酵母属菌种(*Moniliellaacetobutans* sp.)、变

异核瑚菌 (*Typhula variabilis*)、木兰假丝酵母 (*Candida magnoliae*)、黑粉菌纲属菌种 (*Ustilaginomycetes sp.*)、筑波拟酵母 (*Ps eudozymat sukubaensis*)、接合酵母属 (*Zygosaccharomyces*) 的酵母种、德巴利酵母属 (*Debaryomyces*)、汉逊酵母属 (*Hansenula*) 和毕赤酵母属 (*Pichia*)、以及暗丛梗孢形圆酵母属 (*Torula*) 的真菌 (例如珊瑚藻圆酵母 (*T. corallina*))。

[0208] 另外的微生物包括乳酸菌组。实例包括干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、德氏乳杆菌、植物乳杆菌、棒状乳芽孢杆菌 (例如,棒状乳杆菌扭曲亚种)、戊糖乳杆菌、短乳杆菌。其它微生物包括戊糖片球菌 (*Pediococcus penosaceus*)、米根霉 (*Rhizopus oryzae*)。

[0209] 几种生物体如细菌、酵母和真菌可用于将生物质源性产物如糖和醇发酵为琥珀酸和类似产物。例如,生物体可选自:琥珀酸放线杆菌 (*Actinobacillus succinogenes*)、产琥珀酸厌氧螺菌 (*Anaerobiospirillum succiniciproducens*)、曼海姆产琥珀酸菌 (*Mannheimia succiniciproducens*)、黄色瘤胃球菌 (*Ruminococcus flaverfaciens*)、黄色瘤胃球菌 (*Ruminococcus albus*)、产琥珀酸丝状杆菌 (*Fibrobacter succinogenes*)、脆弱拟杆菌 (*Bacteroides fragilis*)、栖留胃拟杆菌 (*Bacteroides ruminicola*)、嗜淀粉拟杆菌 (*Bacteroides amylophilus*)、产琥珀酸拟杆菌 (*Bacteroides succinogenes*)、曼海姆产琥珀酸菌 (*Mannheimia succiniciproducens*)、谷氨酸棒状杆菌 (*Corynebacterium glutamicum*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*)、雪白丝衣菌 (*Byssosclama nivea*)、虎皮香菇属 (*Lentinus degener*)、宛氏拟青霉 (*Paecilomyces varioti*)、葡萄酒青霉 (*Penicillium viniferum*)、酿酒酵母、粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*)、栖瘤胃普雷沃氏菌 (*Prevotella ruminicola*)、汉逊德巴利酵母 (*Debaryomyces hansenii*)、链状假丝酵母 (*Candida catenulata*) VKM Y-5、膜璞假丝酵母 (*C. mycoderma*) VKM Y-240、褶皱假丝酵母 (*C. rugosa*) VKM Y-67、帕鲁迪格拿假丝酵母 (*C. paludigena*) VKM Y-2443、产朊假丝酵母 (*C. utilis*) VKM Y-74、产朊假丝酵母 766、涎沫假丝酵母 (*C. zeylanoides*) VKM Y-6、涎沫假丝酵母 VKM Y-14、涎沫假丝酵母 VKM Y-2324、涎沫假丝酵母 VKM Y-1543、涎沫假丝酵母 VKM Y-2595、粗状假丝酵母 (*C. valida*) VKM Y-934、威客海姆克鲁维酵母菌 (*Kluyveromyces wickerhamii*) VKM Y-589、异常毕赤酵母 (*Pichia anomala*) VKM Y-118、贝氏毕赤酵母 (*P. besseyi*) VKM Y-2084、媒介毕赤酵母 (*P. media*) VKM Y-1381、季也蒙毕赤酵母 (*P. guilliermondii*) H-P-4、季也蒙毕赤酵母 916、尹氏毕赤酵母 (*P. inositolovora*) VKM Y-2494、酿酒酵母 VKM Y-381、念珠球拟酵母 (*Torulopsis candida*) 127、念珠球拟酵母 420、解脂耶氏酵母 12a、解脂耶氏酵母 VKM Y-47、解脂耶氏酵母 69、解脂耶氏酵母 VKM Y-57、解脂耶氏酵母 212、解脂耶氏酵母 374/4、解脂耶氏酵母 585、解脂耶氏酵母 695、解脂耶氏酵母 704 以及这些生物体的混合物。

[0210] 许多这样的微生物菌株可公开商购获得抑或通过储藏所获得,所述储藏所如,例如,ATCC(美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection), Manassas, Virginia, USA)、NRRL(农业研究服务培养物保藏中心 (Agricultural Research Service Culture Collection), Peoria, Illinois, USA) 或 DSMZ(德意志微生物保藏中心 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH), Braunschweig, 德国)。

[0211] 可商购的酵母包括,例如,RED STAR® /Lesaffre Ethanol Red(可从 Red Star/Lesaffre, USA 获得)、FALI® (可从 Fleischmann's Yeast (Burns Philip Food Inc. 的

部门), USA 获得)、**SUPERSTART®** (Lallemand Biofuels 和 Distilled Spirits, 加拿大)、**EAGLE C6 FUEL™** 或 **C6FUEL™** (可从 Lallemand Biofuels 和 Distilled Spirits, 加拿大获得)、**GERT STRAND®** (可从 Gert Strand AB, 瑞典获得) 以及 **FERMOL®** (可从 DSM Specialties 获得)。

#### [0212] 蒸馏

[0213] 在发酵之后, 可使用例如“醪塔”蒸馏所得流体以使乙醇和其它醇与大部分水和残余固体分离。流出醪塔的蒸气可以是例如 35 重量%乙醇并且可被供应至精馏塔中。可使用气相分子筛将来自精馏塔接近共沸的 (92.5%) 乙醇与水的混合物纯化为纯 (99.5%) 乙醇。可将醪塔底部物传送至三级蒸发器的第一级。精馏塔回流冷凝器可为此第一级提供热量。在第一级之后, 可使用离心机分离固体并且在旋转干燥器中干燥。可将离心机流出液的一部分 (25%) 再循环至发酵, 并且将其余部分传送至第二蒸发器级和第三蒸发器级。大部分蒸发器冷凝液可作为相当干净的冷凝液返回所述过程中, 其中分离一小部分至废水处理以防止低沸点化合物的堆积。

#### [0214] 含烃材料

[0215] 在利用本文所述的方法和系统的其它实施方案中, 可加工含烃材料。本文所述的任何方法可用于处理本文所述的任何含烃材料。如本文所用的“含烃材料”意指包括油砂、油页岩、沥青砂、煤粉、煤泥、沥青、各种类型的煤以及包含烃组分和固体物质两者的其它天然存在的和合成的材料。固体物质可包括岩石、砂、粘土、石头、泥沙、钻孔泥浆, 或其它固体有机和 / 或无机物质。所述术语还可包括废弃物, 如钻井废弃物和副产物、精炼废弃物和副产物或含有烃组分的其它废弃物, 如沥青瓦和面层、沥青路面等。

#### [0216] 输送系统

[0217] 各种输送系统可用于例如如先前所讨论将生物质材料输送至拱顶并且在拱顶中在电子束下输送。示范性输送机是皮带输送机、气动输送机、螺旋输送机、推车、火车、轨道上火车或推车、电梯、前端装载机、反铲挖土机、起重机、各种铲土机和铲车、货车, 并且可使用投掷装置。例如, 振动式输送机可用于本文所述的各种过程中。振动式输送机描述于 2013 年 10 月 10 日提交的 PCT/US2013/64289 中, 其全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0218] 振动式输送机特别适用于在输送机槽表面上散布材料并且产生均匀层。例如, 初始原料可形成可为至少四英尺高 (例如, 至少约 3 英尺, 至少约 2 英尺, 至少约 1 英尺, 至少约 6 英寸, 至少约 5 英寸, 至少约 4 英寸, 至少约 3 英寸, 至少约 2 英寸, 至少约 1 英寸, 至少约 1/2 英寸) 的材料堆并且跨度小于输送机的宽度 (例如, 小于约 10%、小于约 20%、小于约 30%、小于约 40%、小于约 50%、小于约 60%、小于约 70%、小于约 80%、小于约 90%、小于约 95%、小于约 99%)。振动式输送机可散布材料以跨越输送机槽的整个宽度并且具有均匀的厚度, 优选地如上所讨论。在一些情况下, 另外的散布方法可以是有用的。例如, 散布机如播散式散布机、直落式散布机 (例如 **CHRISTY SPREADER™**) 或其组合可用于使原料落 (例如, 放置、倾倒、散落和 / 或喷洒) 在广泛区域上。任选地, 散布机可将生物质以广泛淋洒或帘幕形式传送到振动式输送机上。另外, 在第一输送机 (例如, 第一输送机用于照射原料) 上游的第二输送机可使生物质落到第一输送机上, 其中第二输送机可具有小于第一输送机的横向于输送方向的宽度。具体地说, 当第二输送机是振动式输送机时, 原料通过第二和第一输送机的作用而散布。在一些任选的实施方案中, 第二输送机以偏斜横切排料结

束（例如以 4:1 的比率斜裁），以使得材料可以较宽帘幕形式（例如，比第二输送机的宽度更宽）落到第一输送机上。生物质经过散布机（例如，播散式散布机、直落式散布机、输送机或横切振动式输送机）的初始掉落区域可跨越第一振动式输送机的整个宽度，或它可跨越此宽度的部分。一旦落到输送机上，就通过输送机的振动更为均匀地散布材料，以使得优选地输送机的整个宽度被均匀的生物质层覆盖。在一些实施方案中，可使用散布机的组合。散布原料的一些方法描述于 2002 年 7 月 23 日提交且 2006 年 12 月 26 日公布的美国专利号 7, 153, 533 中，所述专利的完整公开内容以引用的方式并入本文。

[0219] 一般来说，优选尽可能快地将材料输送穿过电子束以使通量最大化。例如，可以至少 1 英尺 / 分钟，例如至少 2 英尺 / 分钟、至少 3 英尺 / 分钟、至少 4 英尺 / 分钟、至少 5 英尺 / 分钟、至少 10 英尺 / 分钟、至少 15 英尺 / 分钟、至少 20 英尺 / 分钟、至少 25 英尺 / 分钟、至少 30 英尺 / 分钟、至少 40 英尺 / 分钟、至少 50 英尺 / 分钟、至少 60 英尺 / 分钟、至少 70 英尺 / 分钟、至少 80 英尺 / 分钟、至少 90 英尺 / 分钟的速率输送材料。输送速率与射束电流和靶向照射剂量相关，例如对于在 5.5 英寸宽的输送机上散布的 1/4 英寸厚的生物质和 100mA，输送机可以约 20 英尺 / 分钟移动以提供有用的照射剂量（例如对于单次为约 10Mrad），在 50mA 下，输送机可以约 10 英尺 / 分钟移动以提供近似相同的照射剂量。

[0220] 可输送材料的速率取决于正被输送的材料的形状和质量 and 所需的处理。流动材料，例如微粒材料，特别适合于用振动式输送机输送。输送速度可例如为至少 100 磅 / 小时（例如，至少 500 磅 / 小时，至少 1000 磅 / 小时，至少 2000 磅 / 小时，至少 3000 磅 / 小时，至少 4000 磅 / 小时，至少 5000 磅 / 小时，至少 10,000 磅 / 小时，至少 15,000 磅 / 小时或甚至至少 25,000 磅 / 小时）。一些典型的输送速度可以为约 1000 与 10,000 磅 / 小时之间（例如，约 1000 磅 / 小时与 8000 磅 / 小时之间、约 2000 与 7000 磅 / 小时之间、约 2000 与 6000 磅 / 小时之间、约 2000 与 5000 磅 / 小时之间、约 2000 与 4500 磅 / 小时之间、约 1500 与 5000 磅 / 小时之间、约 3000 与 7000 磅 / 小时之间、约 3000 与 6000 磅 / 小时之间、约 4000 与 6000 磅 / 小时之间以及约 4000 与 5000 磅 / 小时之间）。典型的输送速度取决于材料的密度。例如，对于具有约 35 磅 / 英尺<sup>3</sup> 密度的生物质和约 5000 磅 / 小时的输送速度，以约 143 英尺<sup>3</sup> / 小时的速率输送材料，如果材料是 1/4" 厚并且是处于 5.5 英尺宽的槽中，则以约 1250 英尺 / 小时（约 21 英尺 / 分钟）的速率输送材料。输送材料的速率因此可极大地变化。优选地，例如 1/4" 厚的生物质层是以约 5 与 100 英尺 / 分钟之间的速度输送（例如，约 5 与 100 英尺 / 分钟之间、约 6 与 100 英尺 / 分钟之间、约 7 与 100 英尺 / 分钟之间、约 8 与 100 英尺 / 分钟之间、约 9 与 100 英尺 / 分钟之间、约 10 与 100 英尺 / 分钟之间、约 11 与 100 英尺 / 分钟之间、约 12 与 100 英尺 / 分钟之间、约 13 与 100 英尺 / 分钟之间、约 14 与 100 英尺 / 分钟之间、约 15 与 100 英尺 / 分钟之间、约 20 与 100 英尺 / 分钟之间、约 30 与 100 英尺 / 分钟之间、约 40 与 100 英尺 / 分钟之间、约 2 与 60 英尺 / 分钟之间、约 3 与 60 英尺 / 分钟之间、约 5 与 60 英尺 / 分钟之间、约 6 与 60 英尺 / 分钟之间、约 7 与 60 英尺 / 分钟之间、约 8 与 60 英尺 / 分钟之间、约 9 与 60 英尺 / 分钟之间、约 10 与 60 英尺 / 分钟之间、约 15 与 60 英尺 / 分钟之间、约 20 与 60 英尺 / 分钟之间、约 30 与 60 英尺 / 分钟之间、约 40 与 60 英尺 / 分钟之间、约 2 与 50 英尺 / 分钟之间、约 3 与 50 英尺 / 分钟之间、约 5 与 50 英尺 / 分钟之间、约 6 与 50 英尺 / 分钟之间、约 7 与 50 英尺 / 分钟之间、约 8 与 50 英尺 / 分钟之间、约 9 与 50 英尺 / 分钟之间、约 10 与 50 英尺 / 分钟之

间、约 15 与 50 英尺 / 分钟之间、约 20 与 50 英尺 / 分钟之间、约 30 与 50 英尺 / 分钟之间、约 40 与 50 英尺 / 分钟之间)。优选的是以恒定速率输送材料,例如,以便在材料于电子束(例如,淋洒器、场)下通过时帮助维持材料的恒定照射。

[0221] 所描述的振动式输送机可包括用于筛分和分选材料的筛网。在槽的侧面或底部上的开口可用于例如根据尺寸或形状分选、选择或除去特定材料。一些输送机具有平衡力以减小支撑结构上的动力。一些振动式输送机被构造为螺旋升降机,被设计为围绕表面弯曲的和 / 或被设计为使材料从一个输送机掉落至另一个(例如,呈一个台阶、级联或呈一系列台阶或梯级形式)。连同输送材料,输送机本身或加上其它设备或系统可用于筛选、分离、分选、分类、分布、分级、检查、挑选、金属去除、冷冻、共混、混合、定向、加热、烹煮、干燥、脱水、清洁、洗涤、浸出、淬火、涂覆、除尘和 / 或供料。所述输送机还可以包括盖(例如,防尘盖)、侧排料口、底排料口、特殊衬里(例如,防粘、不锈钢、橡胶、定制钢和或开槽的)、分槽、淬火池、屏幕、穿孔板、检测器(例如金属检测器)、高温设计、食品级设计、加热器、干燥器和或冷却器。此外,所述槽可具有各种形状,例如,平底、V形底部、在顶部带凸缘的、弯曲的底部、在任何方向上平坦带脊、管状、半管、有盖的或这些的任何组合。具体地说,输送机可与照射系统和 / 或设备联用。

[0222] 输送机(例如振动式输送机)可由耐腐蚀材料制成。输送机可使用包括不锈钢(例如,304、316 不锈钢、HASTELLOY® 合金和 INCONEL® 合金)的结构材料。例如,来自 Hynes(Kokomo, Indiana, USA) 的 HASTELLOY® 耐腐蚀合金,如 HASTELLOY® B-3® 合金、HASTELLOY® HYBRID-BC1® 合金、HASTELLOY® C-4 合金、HASTELLOY® C-22® 合金、HASTELLOY® C-22HS® 合金、HASTELLOY® C-276 合金、HASTELLOY® C-2000® 合金、HASTELLOY® G-30® 合金、HASTELLOY® G-35® 合金、HASTELLOY® N 合金以及 HASTELLOY® ULTIMET® 合金。

[0223] 振动式输送机可包括不粘释放涂层,例如 TUFFLON™(Dupont, Delaware, USA)。振动式输送机还可包括耐腐蚀涂层。例如,可由 Metal Coatings Corp(Houston, Texas, USA) 和其它提供的涂层如氟聚合物、XYLAN®、二硫化钼、环氧酚醛、磷酸亚铁金属涂层、聚氨酯-高光泽环氧面漆、无机锌、聚四氟乙烯、PPS/Ryton®、氟化乙烯丙烯、PVDF/DYKOR®、ECTFE/HALAR® 以及环氧陶瓷涂层。所述涂层可改进对工艺气体(例如,臭氧)、化学腐蚀、点状腐蚀、磨损腐蚀以及氧化的抗性。

[0224] 任选地,除本文所述的输送系统之外,可封闭一个或多个其它输送系统。当使用外壳时,还可用惰性气体吹扫封闭的输送机,以便将大气维持在降低的氧水平下。使氧水平保持较低避免了臭氧的形成,在一些情况下臭氧由于其反应性和毒性性质是不希望的。例如,氧可低于约 20%(例如,低于约 10%、低于约 1%、低于约 0.1%、低于约 0.01% 或甚至低于约 0.001% 的氧)。可用惰性气体进行吹扫,所述惰性气体包括但不限于氮气、氩气、氦气或二氧化碳。这可由例如液态来源(例如,液氮或液氩)的汽化供应,从空气中就地产生或分离,或由储罐供应。惰性气体可再循环并且可使用催化剂(如铜催化剂床)去除任何残余氧。或者,可进行吹扫、再循环和氧去除的组合以使氧水平保持较低。

[0225] 也可用可与生物质反应的反应性气体吹扫封闭的输送机。这可在照射过程之前、

期间或之后进行。反应性气体可以是但不限于：一氧化二氮、氨、氧、臭氧、烃、芳香族化合物、酰胺、过氧化物、叠氮化物、卤化物、卤氧化物、磷化物、磷、砷、硫化物、硫醇、硼烷和 / 或氢化物。可在外壳中例如通过照射（例如，电子束、UV 照射、微波照射、加热、IR 辐射）活化反应性气体，以使其与生物质反应。可例如通过照射活化生物质本身。优选地，生物质通过电子束活化，以产生自由基，自由基然后例如通过自由基偶合或淬灭与活化或未活化的反应性气体反应。

[0226] 供应至封闭的输送机的吹扫气体也可冷却到例如约 25℃ 以下、约 0℃ 以下、约 -40℃ 以下、约 -80℃ 以下、约 -120℃ 以下。例如，气体可由压缩气体（如液氮）汽化或者由固态二氧化碳升华而成。作为替代性实例，可通过冷冻器冷却气体，或者可冷却部分或整个输送机。

#### [0227] 其它实施方案

[0228] 本文所描述的任何材料、方法或加工的材料可用于制备产物和 / 或中间体，如复合材料、填充剂、粘合剂、塑料添加剂、吸附剂和控制释放剂。所述方法可包括例如通过施加压力和热量至材料来致密化。例如，复合材料可通过将纤维材料与树脂或聚合物组合来制备。例如，辐射可交联树脂例如热塑性树脂可与纤维材料组合以提供纤维材料 / 可交联树脂组合。所述材料可例如适用作建筑材料、保护片、容器以及其它结构材料（例如，模制和 / 或挤压制品）。吸附剂可以是例如呈球团、碎片、纤维和 / 或薄片的形式。吸附剂可例如用作宠物寝具、包装材料或用于污染控制系统中。控制释放基质也可以是呈例如球团、碎片、纤维和或薄片的形式。控制释放基质可例如用于释放药物、杀生物剂、芳香剂。例如，复合材料、吸收剂和控制释放剂以及它们的用途描述于 2006 年 3 月 23 日提交的美国序列号 PCT/US2006/010648 和 2011 年 11 月 22 日提交的美国专利号 8,074,910 中，所述专利的全部公开内容以引用的方式并入本文。

[0229] 在一些实例中，例如利用加速电子以第一水平处理生物质材料以降低不顺应性，以便选择性地释放一种或多种糖（例如，木糖）。生物质然后可被处理至第二水平以释放一种或多种其它糖（例如，葡萄糖）。任选地，可在处理之间干燥生物质。所述处理可包括施加化学和生物化学处理以释放糖。例如，可将生物质材料处理至小于约 20Mrad（例如，小于约 15Mrad、小于约 10Mrad、小于约 5Mrad、小于约 2Mrad）的水平，并且然后用含有少于 10% 的硫酸（例如，少于约 9%、少于约 8%、少于约 7%、少于约 6%、少于约 5%、少于约 4%、少于约 3%、少于约 2%、少于约 1%、少于约 0.75%、少于约 0.50%、少于约 0.25%）的硫酸溶液处理以释放木糖。例如，释放到溶液中的木糖可与固体分离，并且任选地用溶剂 / 溶液（例如用水和 / 或酸化水）洗涤所述固体。任选地，可将所述固体例如在空气中和 / 或真空下任选地用加热（例如，约 150℃ 以下，约 120℃ 以下）干燥至低于约 25wt. %（低于约 20wt. %、低于约 15wt. %、低于约 10wt. %、低于约 5wt. %）的水含量。然后可以小于约 30Mrad（例如，小于约 25Mrad、小于约 20Mrad、小于约 15Mrad、小于约 10Mrad、小于约 5Mrad、小于约 1Mrad 或甚至一点也无）的水平处理所述固体，并且然后用酶（例如纤维素酶）处理以释放葡萄糖。可使葡萄糖（例如，溶液中的葡萄糖）与剩余固体分离。然后可进行进一步加工所述固体，例如用于产生能量或其它产物（例如，木质素源性产物）。

## 实施例

[0230] 在稀释并过滤的水溶液中用适当标准通过 HPLC 测定浓度。除非另外指出,试剂是获自 Sigma/Aldrich, St. Louis MO, Fisher Scientific, Waltham MA 或等效的试剂供应商。

#### [0231] 糖化

[0232] 具有 32 英寸直径、64 英寸高度并配备有 ASME 碟形封头(顶部和底部)的圆柱形储罐用于糖化中。所述储罐还配备有 16"宽的水翼搅拌叶片。通过使热水流动通过围绕所述储罐的半管夹套来提供加热。

[0233] 向所述储罐中装入 200kg 水、80kg 的生物物质以及 18kg 的可从 Genencor, Palo Alto, 和 CA 获得的 Duet™纤维素酶。生物物质是已进行锤磨碾磨并且筛选至 10 与 40 目之间尺寸的玉米穗轴。用电子束将生物物质照射至 35Mrad 的总剂量。使用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  将混合物的 pH 调节并在整个糖化过程中自动维持在 4.8 下。将所述组合加热至 53°C, 在 180rpm 下搅拌约 24 小时, 在此之后糖化被认为完成。

[0234] 将一部分所述材料筛选通过 20 目筛网并且将所述溶液在 4°C 下储存在 8 加仑酸瓶中。

#### [0235] 葡萄糖发酵成乙醇

[0236] 将约 400mL 的糖化材料倾析至 1L New Brunswick BioFlow 115 生物反应器中。在接种之前将材料加气并且加热至 30°C。在 50rpm 下设定搅拌。pH 被测量为在 5.2 下, 其对于发酵来说是可接受的, 所以不对它进行调节。中断加气并且用 5mg 的 Thermosacc 干酵母 (Lallemand, Inc., Memphis TN) (酿酒酵母) 接种生物反应器的内容物。允许发酵进行约 24 小时。

[0237] 在发酵之后, 葡萄糖浓度是低于检测限, 乙醇浓度是约 25g/L, 并且木糖浓度是约 30g/L。

#### [0238] 塔底馏分的制备

[0239] 如上文所述通过从发酵材料中蒸馏乙醇来制备塔底馏分。此外, 通过离心除去固体。溶解固体的最终量是 5wt. % 至 10wt. %。悬浮固体中还存在细屑。在蒸馏之后, 木糖浓度是约 40g/L。这些底部物被指定为塔底馏分 A 批。类似制备的批次被指定为 R 批。

#### [0240] 木糖发酵成丁酸:

#### [0241] 塔底馏分实验 (A)

[0242] 七个 1L New Brunswick BioFlow 115 生物反应器用于所述实验中。所有七个反应器初始填充有 200mL 的 P2 培养基(下文所描述)和 72g 木糖 (Danisco, Copenhagen, DE) 的 3 倍浓缩液, 向所述反应器中的两个 (BR2 和 BR4) 装入 120mL 的如上所述制备的塔底馏分 (A 批)。向两个反应器 (BR6 和 BR8) 装入 240mL 的塔底馏分 (A 批)。向两个 (BR18 和 BR20) 装入 360mL 的塔底馏分 (A 批)。向一个反应器 (BR22) 装入 240mL 的塔底馏分 (R 批)。用去离子水使所有生物反应器达到 600mL 的总体积。例如, BR2 具有 200mL 的 P2 培养基、120mL 的塔底馏分 A 批、约 72 克的木糖以及 DI 水补充至 600mL。木糖浓度是 72 克加约 4.8g 来自塔底馏分, 达到约 128g/L 的浓度。将反应器用  $\text{N}_2$  气体喷射并且用 7% (45mL 的酪丁酸梭菌 (*C. tyrobutyricum*) (ATCC 25755) 接种。将种子在 37°C 下在 300mL 的来自 1mL 冷冻器储备液的强化梭状芽胞杆菌培养基中生长过夜。定期对生物反应器采样并且进行 GC 和 HPLC 分析。使用 3.7N 氢氧化铵将发酵液维持在 6.0 以上。表 1 示出针对这些实验收集的数据。

[0243] 如 US 6, 358, 717 中所描述制备基于 P2 的培养基, 但作为 3 倍浓缩液 (3X), 即仅 1/3 的水用于制备所述溶液。如下制备 P2 培养基。所述培养基包括以下单独制备的溶液 (以克 /100ml 的蒸馏水计, 除非另外指示): 790ml 的蒸馏水 (溶液 I)、0.5g 的  $K_2HPO_4$ 、0.5g 的  $KH_2PO_4$ 、2.2g 的  $CH_3COONH_4$  (溶液 II)、2.0g 的  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、0.1g 的  $MnSO_4 \cdot H_2O$ 、0.1g 的 NaCl、0.1g 的  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  (溶液 III)、以及 100mg 的对氨基苯甲酸、100mg 的硫胺素、1mg 的生物素 (溶液 IV)。将溶液 I 和 II 进行过滤法消毒并且随后混合以形成缓冲溶液。将溶液 III 和 IV 进行过滤法消毒。分别将溶液 III 和 IV 的部分 (10 和 1ml) 无菌地添加至所述缓冲液。P2 培养基的最终 pH 是 6.6。

[0244] 表 1

[0245]

样品	时间(小时)	塔底馏分	丁酸(g/L)	木糖(g/L)
A-BR2	17	20%A 批	8.5	95.1
A-BR4	17	20%A 批	9.7	93.4
A-BR6	17	40%A 批	7.9	90.4
A-BR8	17	40%A 批	4.9	106.4
A-BR18	17	60%A 批	4.8	94.8
A-BR20	17	60%A 批	5.5	94.6
A-BR22	17	60%R 批	7.8	115.4
A-BR2	24	20%A 批	15.6	81.4
A-BR4	24	20%A 批	16.3	79.1
A-BR6	24	40%A 批	16.3	78.9
A-BR8	24	40%A 批	8	91.5
A-BR18	24	60%A 批	9.5	83.8
A-BR20	24	60%A 批	11.2	81.9
A-BR22	24	60%R 批	12.7	102
A-BR2	41	20%A 批	29.6	40.4
A-BR4	41	20%A 批	30.8	35.1
A-BR6	41	40%A 批	31.3	44.4
A-BR8	41	40%A 批	20.9	55.8
A-BR18	41	60%A 批	27	54.5
A-BR20	41	60%A 批	27.6	52.2
A-BR22	41	60%R 批	28.7	60.9
A-BR2	48	20%A 批	34	28.5
A-BR4	48	20%A 批	36	22.4
A-BR6	48	40%A 批	34.7	35.7
A-BR8	48	40%A 批	27.5	44.8
A-BR18	48	60%A 批	32.7	46.9
A-BR20	48	60%A 批	33.2	44.6
A-BR22	48	60%R 批	30.8	48.7
A-BR2	66	20%A 批	48	5.6
A-BR4	66	20%A 批	48.1	0.5
A-BR6	66	40%A 批	39.1	19.1
A-BR8	66	40%A 批	36.4	23.1
A-BR18	66	60%A 批	38.1	28.7
A-BR20	66	60%A 批	36.1	27.7
A-BR22	66	60%R 批	38.1	25.2
A-BR2	72	20%A 批	43.5	1.8
A-BR4	72	20%A 批	42.8	NF

[0246]

A-BR6	72	40%A 批	41.3	14.9
A-BR8	72	40%A 批	41	16.4
A-BR18	72	60%A 批	39.3	23.6
A-BR20	72	60%A 批	39	23.1
A-BR22	72	60%R 批	48.9	18.2
A-BR2	138	20%A 批	47.4	NF
A-BR4	138	20%A 批	43.2	NF
A-BR6	138	40%A 批	49	2.1
A-BR8	138	40%A 批	46.1	0.5
A-BR18	138	60%A 批	48.4	3
A-BR20	138	60%A 批	47.5	3.9
A-BR22	138	60%R 批	47.9	0.7
NF: 未发现, 低于检测限				

[0247] 塔底馏分实验 (B)

[0248] 六个生物反应器用于所述实验中。对于 600mL 的反应器装料,两个反应器 (B-BR2 和 B-BR4) 填充有 72g 的木糖、5ppm  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  以及 6g/L Fluka 牌酵母提取物并且添加去离子水以获得 600mL。将两个其它反应器 (B-BR6 和 B-BR8) 填充 72g 的木糖、5ppm  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、40% 240mL 塔底馏分并且添加去离子水以获得 600mL。将一个反应器 (B-BR18) 填充 72g 的木糖。将 200mL 的改良的 P2 补充 240mL 塔底馏分并且添加去离子水以获得 600mL。将另一个反应器 (B-BR20) 填充 72g 的木糖、补充 (如上文所述,但不是作为 3 倍浓缩液) 有 60g/L 酵母提取物的 200mL 的改良的 P2 并且添加去离子水以获得 600mL。将所有六个反应器用  $\text{N}_2$  气体喷射并且然后用 5% (30ml) 的酪丁酸梭菌 (ATCC 25755) 接种。表 2 示出此数据。

[0249] 将种子在每升包括 10g 蛋白胨、10g 牛肉提取物、5g  $\text{NaCl}$ 、5g 的 L 半胱氨酸、3g 的乙酸钠、5g 的无水琼脂以及 5g 的木糖的改良的强化梭状芽胞杆菌培养基中生长过夜。将培养基在 900ml 的不含木糖的去离子水中补足;将 270ml 等分至 500ml 瓶中。将瓶喷射、蒸压并且将 30ml 的 50g/L 木糖通过 .22 微米过滤器注射至每个瓶中。在注射之前将木糖溶液用  $\text{N}_2$  气体喷射。每 300ml 瓶使用 1ml 冷冻器储备液。

[0250] 使用 3.7N  $\text{NH}_4\text{OH}$  将发酵液的 pH 维持在 6.0 以上。定期取得样品并且用 GC 和 HPLC 分析。

[0251] 表 2

[0252]

样品	时间(小时)	培养基	丁酸(g/L)	木糖(g/L)
B-BR2	17	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	NF	94
B-BR4	17	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	NF	95.4
B-BR6	17	40% DB + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	NF	117.8
B-BR8	17	40% DB+ 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	NF	119.2
B-BR18	17	P2 + 40% DB	0.3	104.4
B-BR20	17	P2 + 60g/L YE	NF	98.2
B-BR2	24	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	0.8	84.4
B-BR4	24	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	1.2	83.1
B-BR6	24	40% DB + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	0.8	113.2
B-BR8	24	40% DB+ 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	0.7	113
B-BR18	24	P2 + 40% DB	0.9	101
B-BR20	24	P2 + 60g/L YE	1.7	99
B-BR2	41	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	5.5	51.9
B-BR4	41	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	9.3	48.5
B-BR6	41	40% DB + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	14.8	88
B-BR8	41	40% DB+ 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	14	91.4
B-BR18	41	P2 + 40% DB	7.9	73.7
B-BR20	41	P2 + 60g/L YE	32.5	3.8
B-BR2	48	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	7.1	44.1
B-BR4	48	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	11	41.9
B-BR6	48	40% DB + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	18.8	77.3
B-BR8	48	40% DB+ 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	19.2	81.9
B-BR18	48	P2 + 40% DB	16.8	66.2
B-BR20	48	P2 + 60g/L YE	37.1	NF

[0253]

B-BR2	66	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	9.5	31.5
B-BR4	66	6g/L YE + 5mg/ FeSO <sub>4</sub>	15.2	30.1
B-BR6	66	40% DB + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	27.4	53.6
B-BR8	66	40% DB+ 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	25.2	61
B-BR18	66	P2 + 40% DB	28.7	43.9
B-BR20	66	P2 + 60g/L YE	41.3	NF
B-BR2	72	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	9.5	29
B-BR4	72	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	17.8	27.8
B-BR6	72	40% DB + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	27.6	47.8
B-BR8	72	40% DB+ 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	26.7	52.4
B-BR18	72	P2 + 40% DB	30.6	36.5
B-BR20	72	P2 + 60g/L YE	36.2	NF
B-BR2	137	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	9.8	19.4
B-BR4	137	6g/L YE + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	20.6	16.6
B-BR6	137	40% DB + 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	41.9	24.1
B-BR8	137	40% DB+ 5mg/L FeSO <sub>4</sub>	42.6	16.6
B-BR18	137	P2 + 40% DB	40.2	4.3
B-BR20	137	P2 + 60g/L YE	36.3	NF
NF: 未发现, 低于检测限				
YE: 酵母提取物				
DB: 塔底馏分				
P2: 改良的 P2 培养基				

[0254] 使用酸性树脂分离丁酸盐

[0255] 将 Amberlite™ IRA 400 树脂 (500g) 在 5L 圆底烧瓶中用水 (2x500mL) 洗涤。在将发酵液添加至湿树脂之前用移液管小心地除去过量水。添加含有 44.7g/L 丁酸的发酵液 (2L) 并且使用磁力搅拌器搅拌所得混合物 1.5 小时。除去较少分析样品并且通过 GC 顶空分析发现其含有 32.5g/L 丁酸 (27% 损失)。这指示 24.5g 的丁酸被吸收到树脂上。

[0256] 将上清液倾出并且将湿树脂负载到在底部处具有金属丝网筛以防止堵塞的玻璃柱上。用水流 (2L) 将发酵液冲洗掉树脂直到洗脱液澄清。然后将树脂转移至含有磁性搅拌棒的 2L 圆底烧瓶并且然后用 100mL 的 1N HCl 处理, 接着用 8mL 的 6N HCl 处理。将所得混合物搅拌 5 分钟并且发现 pH 是 2.5, 然后使所得混合物经受蒸馏。总计球管对球管 (bulb

to bulb) 蒸馏得到 150-250mL 级分。在蒸馏之间,将更多水和 1N HCl 添加至树脂。用 20% 水性 NaOH 使级分成碱性并且通过旋转蒸发浓缩。在 120°C 下在真空中干燥过夜在样品中得到 16.23g 作为合并粗固体或 14.13g 的丁酸钠。这相当于五次蒸馏 57.7% 的回收率。另外蒸馏将导致更高回收率。

#### [0257] 使用碱性树脂分离丁酸盐

[0258] 向 1L 圆底烧瓶中的 400mL 的丁酸发酵液 (44.58g/L) 添加 100mL 的 Amberlite™ IRN 150 (碱性组分) 湿树脂。将所得混合物在室温下搅拌 2 小时并且然后允许静置 10 分钟。将较少分析样品 (1/2mL) 除去并且放置在小瓶中。通过 GC 顶空分析发现这具有 24.29g/L 丁酸 (54.49% 减少)。这指示 9.72g 被吸收到树脂上。

[0259] 将上清液倾出并且用 50mL 移液管除去剩余发酵液。将树脂用水 (8x 25mL) 冲洗并且然后用 EtOH (50mL) 中的 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液处理。将所得混合物在室温下搅拌 5 分钟并且然后通过移液管除去乙醇溶液。然后将树脂用 EtOH (10x 25mL) 冲洗,接着用水 (10x 25mL) 冲洗。将 EtOH 冲洗溶液合并并且用 20% NaOH (pH 11) 碱化且然后通过旋转蒸发浓缩。类似地处理水冲洗溶液并且在 120°C 下在真空中进一步干燥两种固体以从乙醇得到 6.74g (通过 LC 分析, 72.57% 丁酸钠) 并且从水中得到 1.90g (通过 LC 分析, 80.44% 丁酸钠)。来自树脂的总回收率是 66.1%。

#### [0260] 将丁酸盐转化成丁酸乙酯

[0261] 将含有总计 8.9g 丁酸钠的固体的粗混合物用 250mL 圆底烧瓶中的 50mL 乙醇处理并且将所得混合物在水浴中冷却并且用浓硫酸 (16g) 缓慢处理,同时用磁性搅拌棒搅拌。所述圆底烧瓶装配有回流冷凝器并且将反应混合物在 N<sub>2</sub> 下煮沸 4 小时。在冷却至室温之后,将反应混合物倾至含有 150mL Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (40g) 水溶液的分液漏斗中。在混合之后所述溶液的最终 pH 是 7。将顶层分离出并且过滤通过玻璃绒以除去淤渣,从而得到 4.5mL 的丁酸乙酯。将这一样品与其它类似的样品合并以得到约 29g 的粗液体,将所述粗液体蒸馏以得到 23.6g (通过 LC 分析, 88% 纯度) 的丁酸乙酯。杂质主要是乙醇 (9.2%) 和乙酸乙酯 (2%)。

#### [0262] 丁酸乙酯的氢解

[0263] 将 225mL 的无水乙醇中的丁酸乙酯 (20.8g, 0.176mol) 添加至 1L 不锈钢高压釜中的 0.5% 氧化铝上 Re (8.1g, 还原的)。在用 N<sub>2</sub> 吹扫并且抽空之后,将所得混合物填充 116psi H<sub>2</sub> 并且然后在 600rpm 下搅拌且在 270°C 下历经 4 天时间加热总计 25.5 小时。将高压釜在每天早上减压至室温并且然后添加更多 H<sub>2</sub> (108-112psi)。1400-1500psi 范围的压力用于氢化。气相色谱法顶空分析指示大于 65% 摩尔的丁酸乙酯转化率,并且生成正丁醇的选择率是大于 90%。

[0264] 除了本文中的实施例以外或除非另外明确规定,否则本说明书的以下部分和所附权利要求书中的如关于材料量、要素含量、反应时间和温度、数量比率和其它项目的所有数值范围、量、值和百分比可理解为前面加上措词“约”,即使术语“约”可能未明确地与值、量或范围一起出现也如此。因此,除非有相反的指示,否则以下说明书和所附权利要求书中所陈述的数值参数均是近似值,所述近似值可取决于本发明要寻求获得的所需特性而变化。在最低限度上并且不试图限制对权利要求书范围的等同原则的应用,每个数值参数均应当至少根据报道的有效数字的数值和通过应用普通四舍五入技术来解读。

[0265] 尽管展示本发明的宽泛范围的数值范围和参数是近似值,但在具体实施例中所陈述的数值尽可能准确地加以报道。然而,任何数值都固有地含有必然由其根本的各自测试测量中所发现的标准偏差引起的某些误差。此外,当在本文阐述数值范围时,这些范围是将所列范围端点包含在内的(例如,可使用端点)。当本文使用重量百分比时,所报道的数值是相对于总重量而言的。

[0266] 此外,应了解本文叙述的任何数值范围意欲包括纳入其中的所有子范围。例如,“1至10”的范围意在包括在所列的最小值1与所列的最大值10(含1和10)之间的所有子范围,即具有等于或大于1的最小值以及等于或小于10的最大值。本文使用的术语“一个/种(one)”、“一个/种(a)”或“一个/种(an)”意欲包括“至少一个/种”或“一个或多个/种”,除非另有指示。

[0267] 据称以引用的方式并入本文的任何专利、公布或其它公开材料的全部或部分仅在以下程度上并入本文:并入的材料不得与本公开内容中阐述的现有定义、陈述或其它公开材料冲突。因此,并且在必要的程度上,如本文所明确阐述的公开内容取代以引用的方式并入本文的任何冲突的材料。据称以引用的方式并入本文、但与本文所阐述的现有定义、陈述或其它公开材料相冲突的任何材料或其部分将仅仅是在不会在所并入的材料与现有公开材料之间产生冲突的程度上并入。

[0268] 虽然已参考优选实施方案对本发明进行了特定显示和描述,但本领域技术人员应了解,可在不脱离由所附权利要求涵盖的本发明的范围的情况下在其中在形式和细节方面作出各种改变。

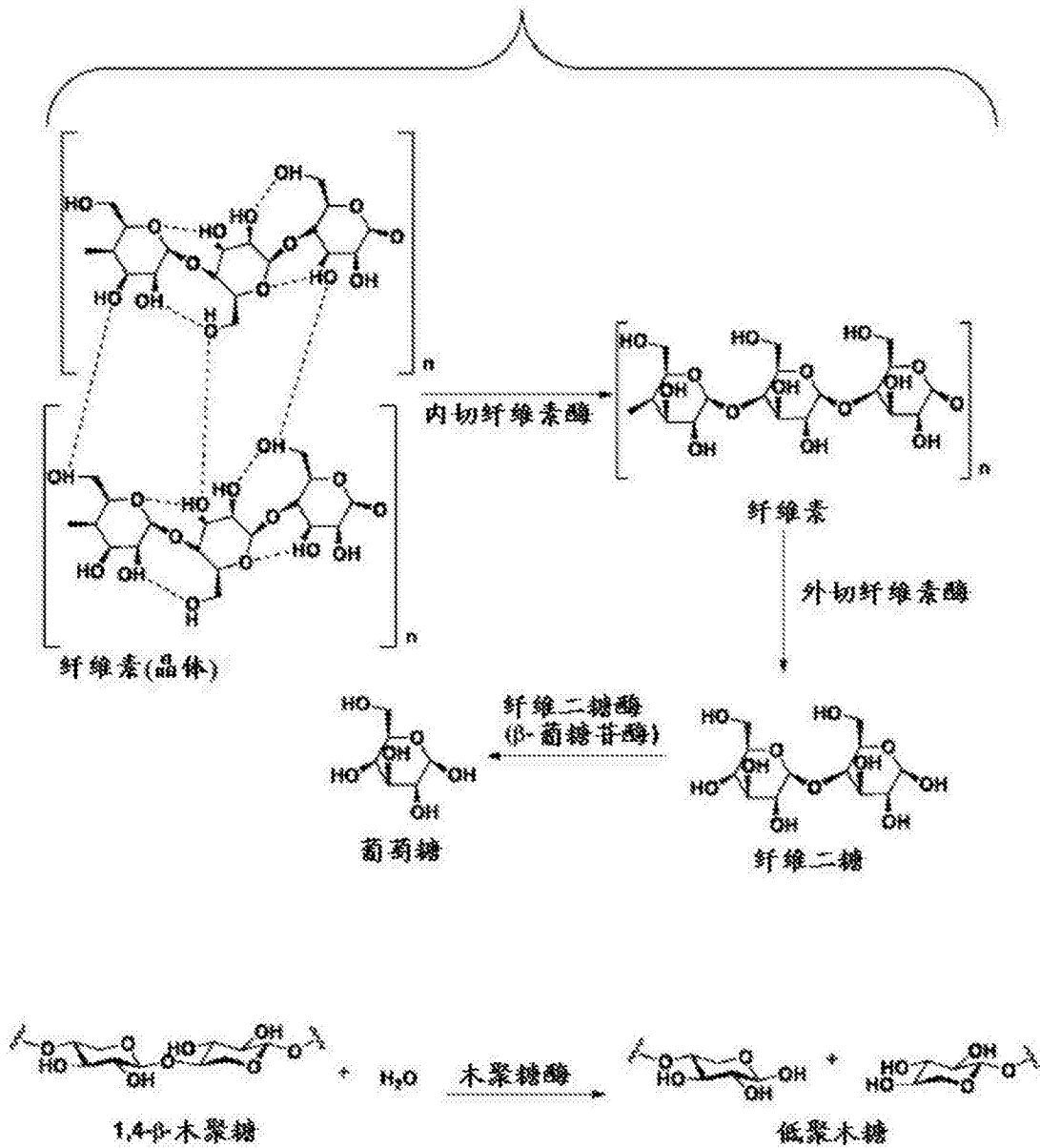


图 1

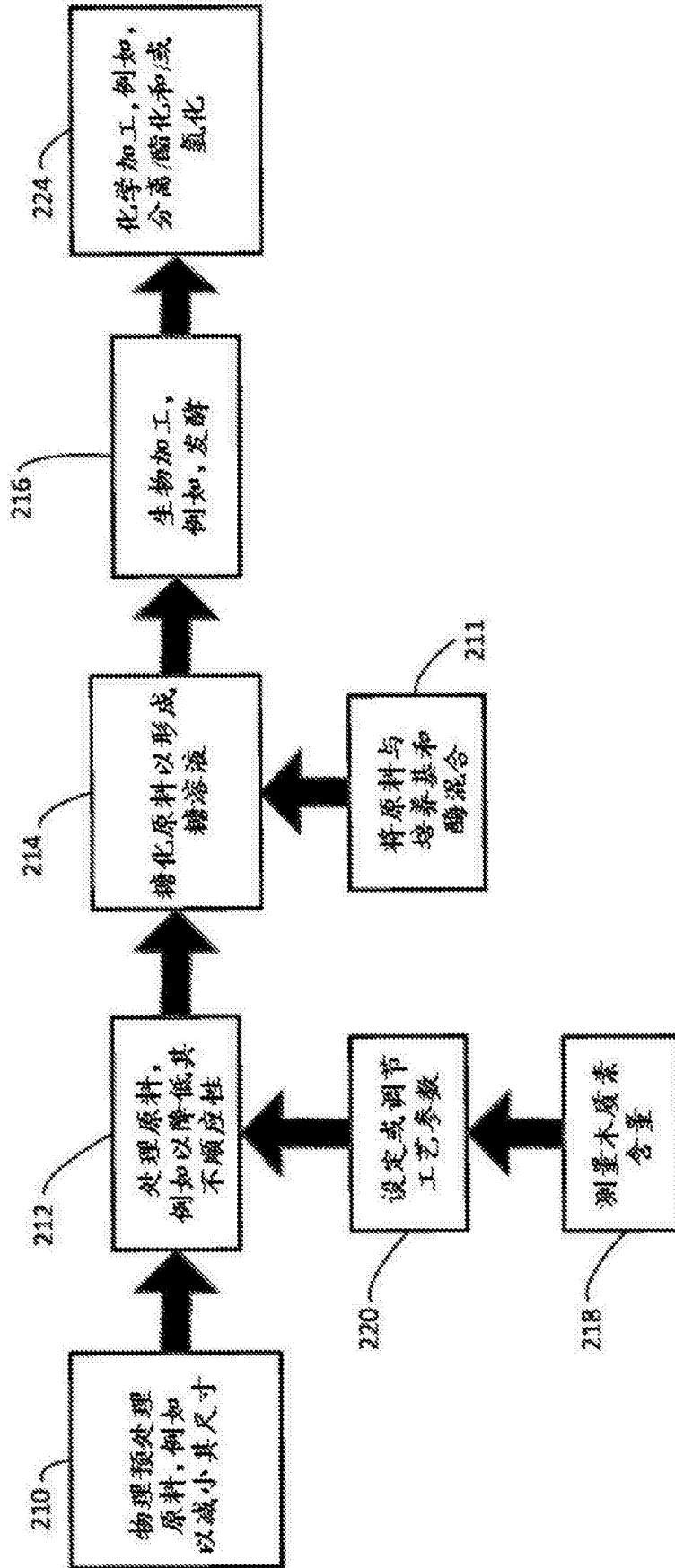


图 2

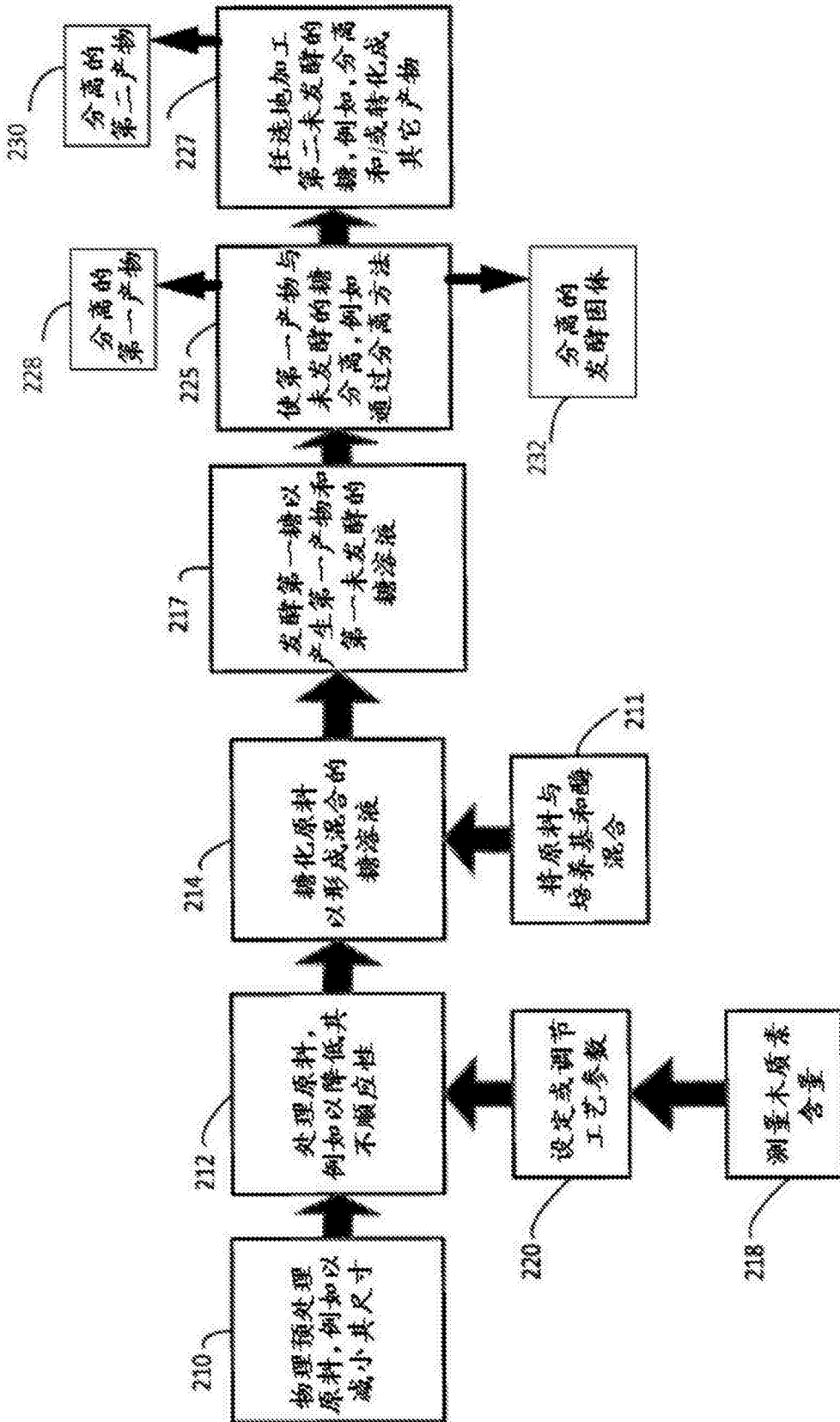


图 3

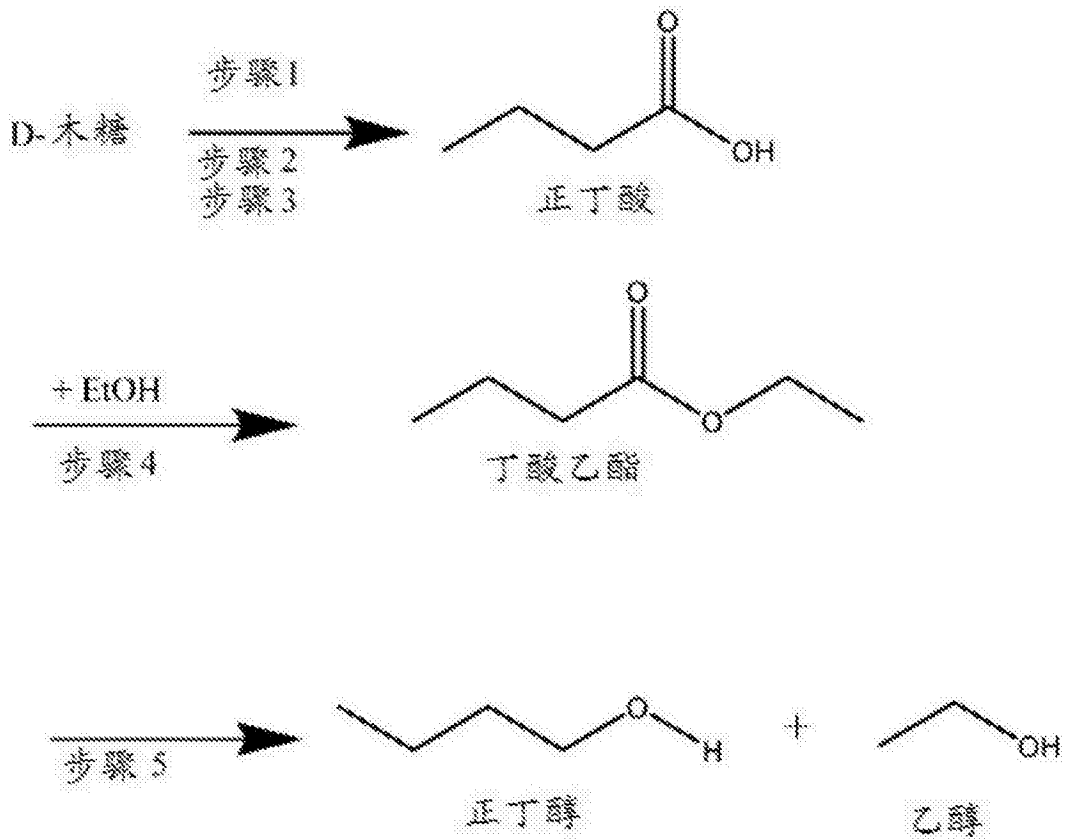


图 4