

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成21年7月2日(2009.7.2)

【公表番号】特表2008-535524(P2008-535524A)

【公表日】平成20年9月4日(2008.9.4)

【年通号数】公開・登録公報2008-035

【出願番号】特願2008-506759(P2008-506759)

【国際特許分類】

C 1 2 P 7/06 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 P 7/06

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成21年4月8日(2009.4.8)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

a) バイオマスをアンモニアを含んでなる水溶液と接触させ、ここで、アンモニアはバイオマス - 水性アンモニア混合物のアルカリ性 pH を維持するために少なくとも十分な濃度で存在するが、該アンモニアはバイオマスの乾燥重量に対して約 12 重量パーセント未満で存在し、かつさらにバイオマスの乾燥重量はバイオマス - 水性アンモニア混合物の重量に対して少なくとも約 15 重量パーセントの高固体濃度にあり、

b) ステップ (a) の生成物を、発酵性糖を生成せしめるのに適切な条件下で糖化酵素コンソーシアムと接触させ、

c) 適切な発酵条件下でステップ (b) の生成物を適切な生体触媒と接触させ、エタノールを生成せしめる、

ことを含んでなるエタノールの製造方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0061

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0061】

生体触媒による発酵にて生成されるエタノールは、当該技術分野で既知の様々な方法を用いて回収されうる。生成物は、遠心分離、濾過、精密濾過、およびナノ濾過により、他の発酵成分から分離されうる。生成物は、イオン交換、溶媒抽出、または電気透析により抽出されうる。凝集剤を使用することで、生成物の分離が促進される。具体例として、バイオ生成されたエタノールは、A B E 発酵についての当該技術分野で既知の方法を用いて発酵培地から単離されうる (例えば、デュレ (Durre)、Appl. Microbiol. Biotechnol. 49: 639 - 648 頁 (1998 年)、グルート (Groot) ら、Process. Biochem. 27: 61 - 75 頁 (1992 年)、およびそれらの中の参考文献を参照)。例えば、遠心分離、濾過、デカンテーションまたは同類のものにより、固体が発酵培地から除去されうる。次いで、エタノールは、蒸留、共

沸蒸留、液体 - 液体抽出、吸着、ガストリップング、膜蒸発、または透析蒸発などの方法を用いて発酵培地から単離されうる。

以上本発明を要約すれば以下のとおりである。

1. a) バイオマスをアンモニアを含んでなる水溶液と接触させ、ここで、アンモニアはバイオマス - 水性アンモニア混合物のアルカリ性 pH を維持するために少なくとも十分な濃度で存在するが、該アンモニアはバイオマスの乾燥重量に対して約 12 重量パーセント未満で存在し、かつさらにバイオマスの乾燥重量はバイオマス - 水性アンモニア混合物の重量に対して少なくとも約 15 重量パーセントの高固体濃度であり、

b) ステップ (a) の生成物を、発酵性糖を生成せしめるのに適切な条件下で糖化酵素コンソーシアムと接触させ、

c) 適切な発酵条件下でステップ (b) の生成物を適切な生体触媒と接触させ、エタノールを生成せしめる、

ことを含んでなるエタノールの製造方法。

2. 適切な生体触媒が細菌、糸状真菌および酵母よりなる群から選択される前記 1 に記載の方法。

3. 適切な生体触媒がエシエリキア (*Escherichia*)、チモナス (*Zymomonas*)、サッカロミセス (*Saccharomyces*)、カンジダ (*Candida*)、ピキア (*Pichia*)、ストレプトマイセス (*Streptomyces*)、バチルス (*Bacillus*)、ラクトバチルス (*Lactobacillus*)、およびクロストリジウム (*Clostridium*) よりなる群から選択される野生型微生物、変異微生物、または組換え微生物である前記 1 に記載の方法。

4. 適切な生体触媒が組換え大腸菌 (*Escherichia coli*)、チモナス・モビリス (*Zymomonas mobilis*)、バチルス・ステアロサーモフィルス (*Bacillus stearothermophilus*)、サッカロミセス・セレビシェ (*Saccharomyces cerevisiae*)、およびピキア・スティピチス (*Pichia stipitis*) よりなる群から選択される前記 1 に記載の方法。

5. 該適切な生体触媒が組換えチモナス・モビリス (*Zymomonas mobilis*) である前記 1 に記載の方法。

6. ステップ (b) および (c) を同時に実施する前記 1 に記載の方法。

7. バイオマス - 水性アンモニア混合物の pH が 8 より大きい前記 1 に記載の方法。

8. バイオマスとアンモニアを含んでなる水溶液との接触に先立ち、バイオマスに真空を適用する前記 1 に記載の方法。

9. 該バイオマスの乾燥重量が少なくとも約 15% ~ 約 80% の高固体濃度にある前記 1 に記載の方法。

10. 該バイオマスの乾燥重量が少なくとも約 15% ~ 約 60% の高固体濃度にある前記 9 に記載の方法。

11. 該アンモニアがバイオマスの乾燥重量に対して約 10 重量パーセント未満で存在する前記 1 に記載の方法。

12. 該アンモニアがバイオマスの乾燥重量に対して約 6% もしくはそれ以下の重量パーセントで存在する前記 11 に記載の方法。

13. バイオマスがバイオエネルギー作物、農業残渣、都市固体廃棄物、産業固体廃棄物、工場廃棄物、木材および林業廃棄物よりなる群から選択される前記 1 に記載の方法。

14. バイオマスがスイッチグラス、紙くず、製紙汚泥、トウモロコシ粒、トウモロコシ穂軸、トウモロコシの皮、コーンストーバー、草、小麦、小麦のわら、まぐさ、大麦、大麦のわら、稲わら、サトウキビバガス、モロコシ、大豆、穀物の加工から得られる成分、木、枝、根、葉、ウッドチップ、おがくず、低木およびブッシュ、野菜、果物、花ならびに動物糞尿よりなる群から選択される前記 1 に記載の方法。

15. バイオマスがトウモロコシ穂軸、コーンストーバー、トウモロコシの皮、サトウキビバガス、おがくず、スイッチグラス、小麦のわら、まぐさ、大麦のわら、稲わら、およ

び草よりなる群から選択される前記 1 4 に記載の方法。

1 6 . バイオマスがトウモロコシ穂軸、コーンストーバー、おがくず、およびサトウキビバガスよりなる群から選択される前記 1 5 に記載の方法。

1 7 . アンモニアがアンモニアガス、水酸化アンモニウム、尿素、およびこれらの組み合わせよりなる群から選択される前記 1 に記載の方法。

1 8 . ( a ) を約 4 ~ 約 2 0 0 の温度で実施する前記 1 に記載の方法。

1 9 . ( a ) を約 7 5 ~ 約 1 5 0 の温度で実施する前記 1 8 に記載の方法。

2 0 . ( a ) を 9 0 より高く約 1 5 0 までの温度で実施する前記 1 9 に記載の方法。

2 1 . ( a ) を最大約 2 5 時間の期間実施する前記 1 に記載の方法。

2 2 . ( a ) を最大約 8 時間の期間実施する前記 2 1 に記載の方法。

2 3 . ( a ) のアンモニアの少なくとも一部を ( b ) に先立ち除去する前記 1 または 6 に記載の方法。

2 4 . ( a ) からのアンモニアをリサイクルする前記 2 3 に記載の方法。

2 5 . ( b ) の接触が少なくとも約 1 5 % のバイオマス濃度の乾燥重量で行われる前記 1 に記載の方法。

2 6 . ( a ) 、 ( b ) または ( a ) および ( b ) を少なくとも 1 回繰り返す前記 1 に記載の方法。

2 7 . ( a ) において少なくとも 1 種の可塑剤、柔軟剤またはこれらの組み合わせを添加することをさらに含んでなる前記 1 に記載の方法。

2 8 . 該少なくとも 1 種の可塑剤、柔軟剤またはこれらの組み合わせがポリオール、ポリオールのエステル、グリコールエーテル、アセトアミド、エタノール、およびエタノールアミンよりなる群から選択される前記 2 7 に記載の方法。

2 9 . ( a ) の前または間、( b ) の前または間、あるいはそれらの組み合わせにおいてエネルギーを適用することをさらに含んでなる前記 1 に記載の方法。

3 0 . 該エネルギーがミリング、クラッシング、粉碎、破砕、チョッピング、ディスクリファイニング、超音波およびマイクロ波よりなる群から選択される前記 2 9 に記載の方法。

3 1 . 糖化に先立ち、発酵からの二酸化炭素を使用して前処理混合物の pH を調節する前記 1 に記載の方法。

3 2 . 該糖化酵素コンソーシアムが少なくとも 1 種のグリコシダーゼを含んでなる前記 1 に記載の方法。

3 3 . 該糖化酵素コンソーシアムがセルロース - 加水分解性グリコシダーゼ、ヘミセルロース - 加水分解性グリコシダーゼ、澱粉 - 加水分解性グリコシダーゼ、ペプチダーゼ、リパーゼ、リグニナーゼおよびフェルロイルエステラーゼよりなる群から選択される少なくとも 1 種の酵素を含んでなる前記 1 に記載の方法。

3 4 . 該糖化酵素コンソーシアムがセルラーゼ、エンドグルカナーゼ、エキソグルカナーゼ、セロピオヒドロラーゼ、 $\alpha$ -グルコシダーゼ、キシラナーゼ、エンドキシラナーゼ、エキソキシラナーゼ、 $\beta$ -キシロシダーゼ、アラビノキシラナーゼ、マンナーゼ、ガラクターゼ、ペクチナーゼ、グルクロニダーゼ、アミラーゼ、 $\alpha$ -アミラーゼ、 $\beta$ -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、 $\gamma$ -グルコシダーゼ、イソアミラーゼよりなる群から選択される少なくとも 1 種の酵素を含んでなる前記 1 に記載の方法。

3 5 . ( b ) を約 1 5 ~ 約 1 0 0 の温度および約 2 ~ 約 1 1 の pH で実施する前記 1 に記載の方法。