УКРАЇНА

(19) UA (11) 120858 (13) C2

(51) МПК (2020.01)
*C12P 7/06* (2006.01)
C08B 37/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА УКРАЇНИ

# (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **a 2017 01670**

(22) Дата подання заявки: **12.12.2015**

(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **25.02.2020**

(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **62/127,637, 62/139,881, 14/940,390, 14/966,650**

(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **03.03.2015, 30.03.2015, 13.11.2015, 11.12.2015**

(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **US, US, US, US**

(41) Публікація відомостей про заявку: **11.12.2017, Бюл.№ 23**

(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.02.2020, Бюл.№ 4**

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору PCT: **PCT/US2015/065416, 12.12.2015**

(72) Винахідник(и):
**Гемрік Едвард Брайан (US)**

(73) Власник(и):
**Гемрік Едвард Брайан**,
16850 Collins Ave Ste 112-711, Sunny Isles Beach, Florida 33160, United States of America (US)

(74) Представник:
**Крилова Надія Іванівна, реєстр. №30**

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
WO 2004/081185 A2, 23.09.2004
US 2014/106434 A1, 17.04.2014
CASTELLO M L ET AL, "Effect of osmotic dehydration and vacuum impregnation on respiration rate of cut strawberries", LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY, ACADEMIC PRESS, UNITED KINGDOM, 01.12.2006, vol. 39, no. 10, pages 1171 - 1179

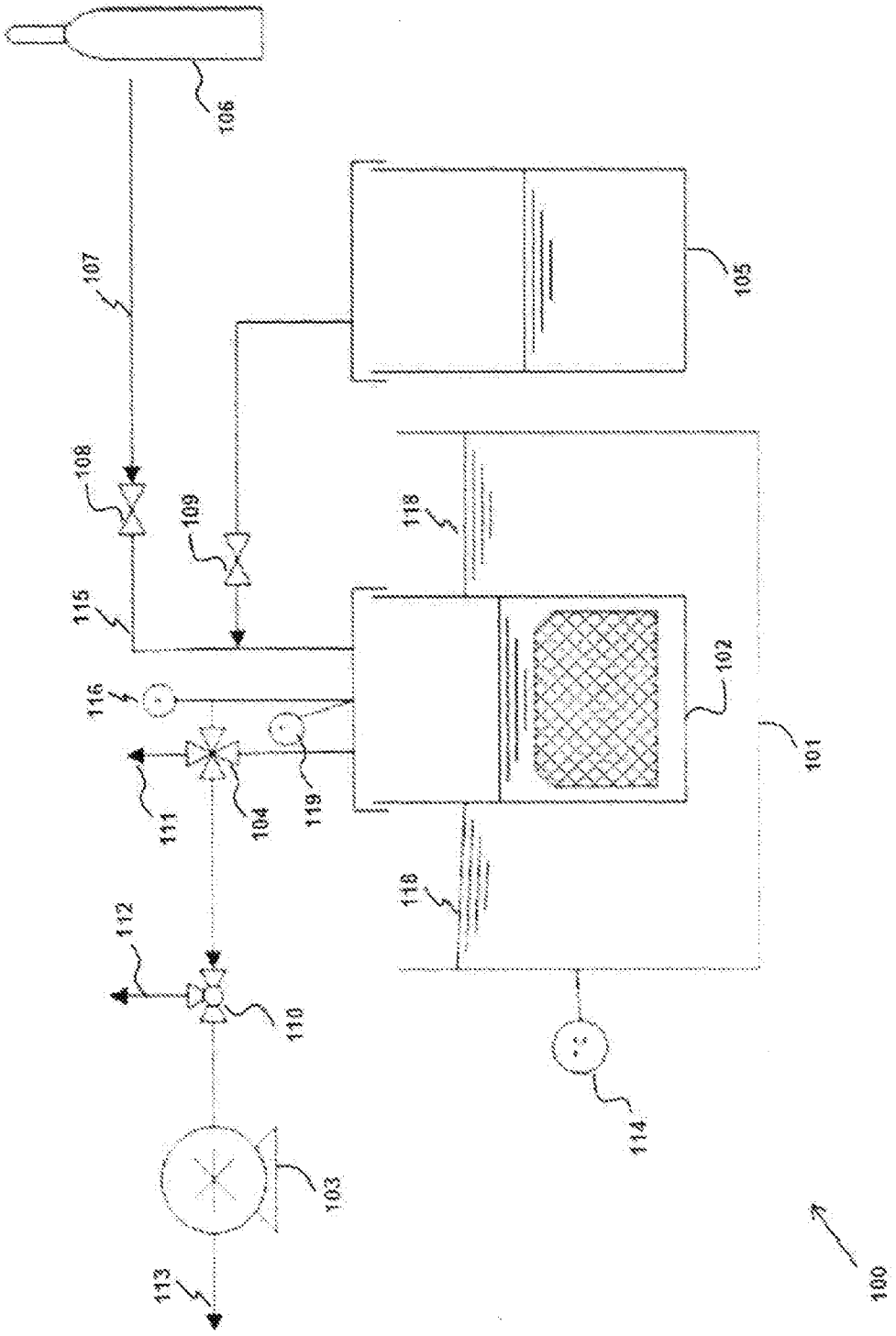
UA 120858 C2

## (54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПРОДУКТІВ ФЕРМЕНТАЦІЇ З БАГАТОЇ НА ВУГЛЕВОДИ ПАРЕНХІМНОЇ ТКАНИНИ РОСЛИНИ

(57) Реферат:

Винахід стосується способу одержання продуктів ферментації з багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини, причому спосіб включає стадії (a) забезпечення сировини, що містить багату на вуглеводи паренхімну тканину рослини з апопластом при температурі сільськогосподарської культури від приблизно 5 до приблизно 40 °C, (b) об'єднання сировини з водним розчином реагенту, який містить дріжджі, при температурі реагенту від приблизно 20 до 40 °C, (c) піддавання сировини тиску газоподібної фази при підготовці протягом часу підготовки або перед стадією (b), або після стадії (b), де тиск газоподібної фази при підготовці є меншим за атмосферний тиск, (d) піддавання сировини тиску газоподібної фази при інфузії протягом часу інфузії, де тиск газоподібної фази при інфузії є більшим тиску газоподібної фази при підготовці, (e) відведення вільної рідини, яку не було уведено в апопласт, та (f) після стадії (e) підтримання тиску газоподібної фази при ферментації протягом часу ферментації для одержання продуктів ферментації в апопласті без повторного введення водного розчину реагенту в сировину, де тиск газоподібної фази при ферментації є більшим за тиск газоподібної фази при підготовці, де продукти ферментації отримують ферментацією вуглеводів, вибраних з групи, що складається з простих цукрів, гідролізованих з крохмалю, простих цукрів,

гідролізованих з інуліну, та їх комбінацій, і де продуктами ферментації є етанол та вуглекислий газ.




Фіг. 1

ДАНІ ПРО ПРІОРИТЕТ

[0001] Дана міжнародна заявка витребує пріоритет на підставі заявки на патент США № 14/966650, поданій 11 грудня 2015 р.; заявки на патент США № 14/940390, поданій 13 листопада 2015 р.; попередньої заявки на патент США № 62/139881, поданій 30 березня 2015 р.; і попередньої заявки на патент США № 62/127637, поданій 3 березня 2015 р., кожна з яких включена в даний документ за допомогою посилання.

ГАЛУЗЬ, ДО ЯКОЇ ВІДНОСИТЬСЯ ВИНАХІД

[0002] Даний винахід відноситься головним чином до способів ферментації багатих на вуглеводи сільськогосподарських культур.

ПЕРЕДУМОВИ ВИНАХОДУ

[0003] Багато ферментуючих організмів перетворюють вуглеводи на етанол. Найбільш широко використовувані ферментуючі організми, пивні дріжджі і пекарські дріжджі, є штамами Saccharomyces cerevisiae. Етанол має важливе економічне значення при використанні як напоїв, транспортного палива та попередників для інших органічних сполук.

[0004] Ферментуючі організми можуть безпосередньо перетворювати глюкозу, фруктозу, мальтозу (димер глюкози) і сахарозу (димер з глюкози та фруктози) на етанол. В даному документі мономери і димери глюкози та фруктози називатимуться простими цукрами, а ферментуючі організми, які перетворюють прості цукри на етанол, називатимуться дріжджами.

[0005] Дріжджі ферментують прості цукри в етанол в анаеробних умовах навколишнього середовища (за відсутності кисню). При ферментації одного моля глюкози або фруктози (або 0,5 моль сахарози) утворюється 2 моля етанолу і 2 моля вуглекислого газу, і виділяється 118 кДж тепла. Це означає, що ферментація 18 % розчину цукру приведе до підвищення температури на 34 °С, а це означає, що необхідним є охолодження середовища ферментації. Ферментація 1 літра 18 % розчину цукру (1 моль глюкози) також буде приводити до утворення 2 молів вуглекислого газу, який має об'єм приблизно 48 літрів при 20 °С і атмосферному тиску. Типові дріжджі найефективніше ферментують при 20-40 °С, але характеризуються значною ферментуючою активністю до 5 °С (біле вино ферментується при 7-15 °С). Клітини дріжджів поступово гинуть при температурах вище 42 °С. Saccharomyces cerevisiae відносно нечутливі до значення pH і здійснюватимуть ферментацію в діапазоні pH від 2,9 до 7,2. Це більш детально описано в Arroyo-López, "Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of Saccharomyces cerevisiae, S. kudriavzevii and their interspecific hybrid", International journal of food microbiology 131.2 (2009): 120-127, яка включена в даний документ за допомогою посилання.

[0006] Діаметр клітин у більшості штамів Saccharomyces cerevisiae становить 10 мікрон. Штамом Saccharomyces cerevisiae з розміром клітин приблизно 5 мікрон є Thermosacc® Dry, доступний від Lallemand Biofuels & Distilled Spirits, Дулут, Джорджія, США. Він виробляє етанол у концентраціях до 20 % за об'ємом (16 % за вагою), таким чином, даними дріжджами можуть бути ферментовані багаті на вуглеводи сільськогосподарські культури з вмістом вуглеводів до 32 % за вагою. Це означає, що сільськогосподарську культуру можна зневоднювати перед ферментацією, щоб концентрація одержуваного етанолу була вищою.

[0007] У присутності простих цукрів клітини дріжджів прилипають до поверхонь (таких як клітини паренхіми). Це описано у Verstrepen and Klis, "Flocculation, adhesion and biofilm formation in yeasts", Molecular microbiology 60.1 (2006): 5-15, яка включена в даний документ за допомогою посилання.

[0008] Saccharomyces cerevisiae продаються в ліофілізованій формі і є простими у використанні. Вони класифікуються як GRAS (Generally Recognized as Safe - визнані в цілому безпечними) і часто споживаються у звичайному раціоні, наприклад, з використанням дріжджів Saccharomyces cerevisiae виробляють хліб.

[0009] Крохмаль являє собою полімер глюкози, а інулін є полімером, який складається переважно із фруктози з глюкозою на одному кінці. Перед тим як крохмаль і інулін зможуть бути перетворені дріжджами на етанол, вони спочатку повинні бути перетворені на прості цукри за допомогою відповідно амілаз та інуліназ, або кислот. Крохмаль не розчиняється у воді в діапазоні температур, при яких дріжджі є активними, і при цьому ж температурному діапазоні розчиняється лише приблизно 5 % інуліну.

[0010] Доступними є амілази, які ефективно перетворять крохмаль на глюкозу в температурному діапазоні, в якому дріжджі ефективно працюють. Одним прикладом є ферментний склад STARGEN® 002 від DuPont Industrial Biosciences, США. Він містить альфа-амілазу з Aspergillus kawachi, експресовану в Trichoderma reesei, і глюкоамілазу з Trichoderma reesei, котрі працюють синергічно з метою гідролізу гранульованого крохмального субстрату до

глюкози. Альфа-амілаза з ендогенною активністю і глюкоамілаза з екзогенною активністю каталізують повний гідроліз гранульованого крохмалю за різних умов ферментації в етанол.

[0011] Доступними є інулінази, які ефективно перетворюють інулін на фруктозу в температурному діапазоні, в якому ефективно працюють дріжджі. Одним прикладом є ферментний склад Fructozyme L, доступний від Novozymes A/S, Данія.

[0012] Багато сільськогосподарських культур містять вуглеводи в клітинах запасаючої паренхіми. Ці багаті на вуглеводи клітини паренхіми зазвичай містять від 10 до 20 % вуглеводів в одній великій вакуолі з 80-90 % води. Ці вуглеводи зазвичай включають прості цукри і полісахариди. В даному документі частини цих багатих на вуглеводи сільськогосподарських культур, які містять значну масу багатих на вуглеводи клітин паренхіми, будуть називатися багатою на вуглеводи паренхімною тканиною. Всі сільськогосподарські культури з багатою на вуглеводи паренхімною тканиною містять в клітинах паренхіми деяку кількість простих цукрів, а деякі містять значну кількість полісахаридів.

[0013] Існує два типи сільськогосподарських культур з багатою на вуглеводи паренхімною тканиною: однодольні рослини (однодольні) в родинах злаків (Poaceae і Dioscorea) та дводольні рослини (дводольні). Вони відрізняються тим, як клітини паренхіми прикріплюються одна до одної. Клітини однодольних прикріплюються за допомогою як пектину, так і геміцелюлози в серединній пластинці, а клітини дводольних прикріплюються за допомогою пектину в серединній пластинці.

[0014] Найбільш широко культивованими сільськогосподарськими культурами з багатою на вуглеводи паренхімною тканиною в стеблах є цукрова тростина (Saccharum officinarum), цукрове сорго (Sorghum bicolor) і гібриди цукрової кукурудзи (Zea mays). Усі вони являють собою однодольні з родини злаків (Poaceae). Цукрова тростина та гібриди цукрової кукурудзи в клітинах запасаючої паренхіми містять прості цукри, а цукрове сорго в клітинах запасаючої паренхіми містить 90 % простих цукрів і 10 % крохмалю.

[0015] Найбільш широко культивованими сільськогосподарськими культурами з багатою на вуглеводи паренхімною тканиною в бульбах є картопля (Solanum tuberosum), солодка картопля (Ipomoea batatas), маніок (Manihot esculenta), ямс (рід Dioscorea) і топінамбур (Helianthus tuberosus). Картопля, солодка картопля, маніок і топінамбур є дводольними, тоді як ямс є однодольним. Картопля, солодка картопля, маніок і ямс у клітинах запасаючої паренхіми містять крохмаль, а топінамбур у клітинах запасаючої паренхіми містить інулін.

[0016] Найбільш широко культивованими сільськогосподарськими культурами з багатою на вуглеводи паренхімною тканиною в плодах є яблука, виноград і апельсини. Всі вони є дводольними і містять глюкозу і фруктозу в клітинах запасаючої паренхіми.

[0017] Існують добре відомі методики ферментації сільськогосподарських культур з багатою на вуглеводи паренхімною тканиною. Стебла зазвичай віджимають за допомогою серії вальців для екстракції соку шляхом руйнування клітин паренхіми, а потім сік відокремлюють від решти твердих частинок і ферментують. Цукрові буряки зазвичай нарізають на дрібні шматочки товщиною приблизно 4 мм (стружка), і цукор екстрагують за допомогою текучої гарячої води і потім ферментують. Фрукти зазвичай вичавлюють для екстракції багатого на цукор соку, який потім ферментують. Крохмалисті сільськогосподарські культури зазвичай перетворюють на етанол шляхом нагрівання бульби вище температури клейстеризації і застосування амілаз для клейстеризованого крохмалю, після чого слідує ферментація глюкози. Багаті на інулін сільськогосподарські культури зазвичай ферментують шляхом нагрівання до розчинення інуліну, екстракції соку, застосування кислотного гідролізу з перетворенням на фруктозу, і потім фруктозу ферментують. Усі ці способи є досить капіталомісткими.

[0018] Клітини запасаючої паренхіми в багатій на вуглеводи паренхімній тканині являють собою тонкостінні поліедричні клітини. Діаметр клітин паренхіми цукрових буряків становить приблизно 100 мікрон, при цьому товщина стінок становить приблизно 2 мікрони. Довжина клітин паренхіми в стеблах становить приблизно 360 мікрон, діаметр становить 60 мікрон, а товщина стінок становить приблизно 2 мікрони. Характеристики запасаючої паренхімної тканини більш детально описані в Gibson, "The hierarchical structure and mechanics of plant materials", Journal of The Royal Society Interface 9.76 (2012): 2749-2766, яка включена в даний документ за допомогою посилання.

[0019] Клітини паренхіми щільно укладені разом, але між ними є невеликі проміжки, оскільки укладка не є досконалою. Такі проміжки відомі як апопласт або міжклітинний простір. Дані проміжки сполучені між собою і вода може проходити крізь паренхімну тканину через дані проміжки. Проходження води через апопласт більш детально описано в Steudle, "Water transport in plants: role of the apoplast", Plant and Soil 187.1 (1996): 67-79, яка включена в даний документ за допомогою посилання.

[0020] Вода тече через апопласт у паренхімній тканині цукрових буряків в осьовому напрямку (вгору/вниз), але обмежена в радіальному напрямку (вхід/вихід) поясками Каспарі в коренях. Це більш детально описано в Amodeo, "Radial and axial water transport in the sugar beet storage root", Journal of Experimental Botany 50.333 (1999): 509-516, яка включена в даний документ за допомогою посилання.

[0021] Аналогічним чином, вода тече через апопласт паренхімної тканини багатих на вуглеводи стебел в осьовому напрямку, але обмежена довжиною міжвузля (неперервні частини стебла). Вода не тече в радіальному напрямку, оскільки зовнішня частина стебла непроникна для води. Міжвузля більшості багатих на вуглеводи стебел має довжину від 100 до 300 мм.

[0022] Апопласт (міжклітинний простір) цукрової тростини є досить великим для заселення різноманітними бактеріями. Це більш детально описано в Dong, "A nitrogen-fixing endophyte of sugarcane stems (a new role for the apoplast)", Plant Physiology 105.4 (1994): 1139-1147 і в Tejera, "Nitrogen compounds in the apoplastic sap of sugarcane stem: Some implications in the association with endophytes", Journal of plant physiology 163.1 (2006): 80-85, обидві з яких включені в даний документ за допомогою посилання. Аналогічним чином, апопласт інших видів багатої на вуглеводи паренхімної тканини є досить великим для заселення бактеріями.

[0023] Існує можливість заповнення апопласта багатої на вуглеводи паренхімної тканини із застосуванням вакуумної інфузії (яка називається також вакуумним просоченням). Вона передбачає оточення паренхімної тканини рідиною, застосування вакуумного впливу, очікування поки рідина і газ покинуть паренхімну тканину, припинення вакуумного впливу й очікування, поки рідина не заповнить апопласт. Це більш детально описано в Gras, "The response of some vegetables to vacuum impregnation", Innovative Food Science & Emerging Technologies 3.3 (2002): 263-269, яка включена в даний документ за допомогою посилання.

[0024] Багата на вуглеводи паренхімна тканина часто містить до 20 % (за масою) вуглеводів. Стінка клітин паренхіми забезпечує міцність клітини паренхіми, а клітинна мембрана запобігає витіканню вмісту клітини з неї. Клітинна стінка є проникною для сахарози та інших простих цукрів. Клітинну мембрану можна денатурувати під дією нагрівання зазвичай вище 70 °C, що збільшує коефіцієнт дифузії простих цукрів через клітинну мембрану. Дану методику зазвичай використовують для екстракції сахарози з цукрових буряків: клітинну мембрану денатурують під дією нагрівання, а потім сахароза дифундує з цукрових буряків в гарячу воду. Коефіцієнт дифузії сахарози через денатуровану тканину цукрових буряків приблизно в п'ять разів вищий, ніж через неденатуровану тканину цукрових буряків, що більш детально описано в Bessadok-Jemai et al., "Modeling the kinetic of solute diffusion from sugarbeet particles based on electric conductivity measurements", International Journal of Physical Sciences 6.28 (2011): 6464-6468, яка включена в даний документ за допомогою посилання.

[0025] Клітини паренхіми можна піддавати мацерації (відокремлювати одну від одної) за допомогою або нагрівання, або ферментів. Коли клітини паренхіми піддають мацерації, цілісність клітинної мембрани також порушується як під впливом механічної дії, так і під впливом ферментів, які вивільняються з клітинної стінки. Це приводить до того, що вміст вакуоль витікає з клітин паренхіми, і приводить до того, що ферменти легше дифундують у вакуолі. Це також забезпечує ефект розмочування, при якому воду в клітинах паренхіми можна простіше видаляти за допомогою віджимання або випарювання. Будь-яка комбінація пектинліази, пектатліази і полігалактуронази забезпечує мацерацію клітин паренхіми у дводольних, тоді як пектинліаза і ксиланаза забезпечують мацерацію клітин паренхіми в однодольних. Це описано в Ishii, "Enzymes for the isolation of protoplasts", Plant Protoplasts and Genetic Engineering I. Springer Berlin Heidelberg, 1989, 23-33, яка включена в даний документ за допомогою посилання.

[0026] Пектатліаза і полігалактуроназа при розщепленні пектину також виробляють метанол, який при виробництві етанолу часто є небажаним продуктом. Пектинліаза розщеплює пектин без вироблення метанолу як побічного продукту, а ксиланаза не виробляє жодних спиртів. Доступними є пектинліази, які працюють у тому ж діапазоні pH і температурному діапазоні, що і дріжджі, зокрема пектинліаза з Aspergillus niger, з оптимальним pH 5,5 і оптимальною температурою 35 °C. Це описано в Yadav et al., "Pectin lyase: a review", Process Biochemistry 44.1 (2009): 1-10, яка включена в даний документ за допомогою посилання. Одним прикладом пектинліази, яка працює в тому ж діапазоні pH і температурному діапазоні, що і дріжджі, є ферментний склад "Pectinex® Ultra Color", доступний від Novozymes A/S, Данія.

[0027] При здійсненні ферментації дріжджі виробляють велику кількість вуглекислого газу ($CO_2$). Вугільна кислота утворюється за рахунок розчинення $CO_2$ у воді. При ферментації парціальний тиск $CO_2$ становить 100 кПа (1 атм.), а значення pH даного розчину становить приблизно 3,92. Дріжджі здійснюють ефективну ферментацію при даному значенні pH,

ферменти пектинліази з Aspergillus niger (такі як Pectinex Ultra Color) характеризуються значною активністю при даному значенні pH, ферменти, що гідролізують гранульований крохмаль (такі як STARGEN) характеризуються значною активністю при даному значенні pH і ферменти інулінази (такі як Fructozyme L) характеризуються значною активністю при даному значенні pH. Аналогічно, всі ці ферменти характеризуються значною активністю у температурному діапазоні активності дріжджів (від 25 до 40 °C).

[0028] Температура при зборі цукрових буряків може бути достатньо холодною, часто нижче 10 °C, а температура при зборі цукрової тростини, цукрового сорго і гібридів цукрової кукурудзи може бути нижче 20 °C. Однак тепло, що виділяється при ферментації простих цукрів в апопласті багатої на вуглеводи паренхімної тканини, буде швидко підвищувати температуру даної тканини до температурного діапазону, в якому ферменти характеризуються значною активністю.

[0029] На швидкість ферментації в значній мірі впливає концентрація клітин дріжджів. Ферментація цукрової тростини на звичайних заводах у Бразилії може займати від 6 до 10 годин, але для цього потрібні високі концентрації (10 % вага/вага) дріжджів і рециркуляція клітин дріжджів. Це більш детально описано в Basso, "Ethanol production in Brazil: the industrial process and its impact on yeast fermentation", INTECH Open Access Publisher, 2011, яка включена в даний документ за допомогою посилання. Ферментація вина або пива при нижчих концентраціях дріжджів може займати до тижня.

[0030] Однією важливою проблемою сучасних методик ферментації цукрів в етанол є контамінація бактеріями, зокрема контамінація Lactobacillus. Не бажаючи бути пов'язаними будь-якою конкретною теорією, вважають, що вихрове перемішування поширює бактерії по всьому середовищі ферментації, і оскільки контамінуючі бактерії можуть витісняти дріжджі, виникає значна контамінація. За відсутності перемішування і без градієнта концентрації цукру (обумовлених рівномірним розподілом дріжджів у багатій на вуглеводи паренхімній тканині), будь-яка можлива контамінація бактеріями залишається локалізованою, і не в змозі витіснити дріжджі по всьому об'єму біомаси. Це описано в Kundiyana et al., "Influence of temperature, pH and yeast on in-field production of ethanol from unsterilized sweet sorghum juice", Biomass and bioenergy 34.10 (2010): 1481-1486, яка включена в даний документ за допомогою посилання.

[0031] Оскільки клітини паренхіми є настільки дрібними, то на їх віджимання або екстракцію з них цукру за допомогою гарячої води потрібно багато енергії. Майже 35 % капітальних і виробничих витрат на виробництво цукру зі стебел обумовлені вартістю віджимання. Аналогічним чином, більша частина вартості виробництва цукру з цукрових буряків обумовлена вартістю екстракції гарячою водою. Економічні аспекти віджимання цукрової тростини більш детально описані в Gbaboa, "Comparative study on cane cutter/juice expeller and roller model Sugarcane juice extraction systems", INT J CURR SCI 2013, 7: E 55-60, яка включена в даний документ за допомогою посилання. Якби можна було усунути необхідність у віджиманні або екстракції гарячою водою, це дозволило би знизити витрати на екстракцію цукрів.

[0032] Об'ємна густина цукрових буряків становить приблизно 769 кг/м$^3$, а об'ємна густина фрагментів (нарізаних частин) цукрової тростини, цукрового сорго та гібридів цукрової кукурудзи (тобто стебел) становить приблизно 350 кг/м$^3$. Якщо вміст цукру становить приблизно 18 %, це дає густину цукру, що становить 138 кг цукру на кубічний метр цукрових буряків і 63 кг цукру на кубічний метр цукрової тростини, цукрового сорго та гібридів цукрової кукурудзи. Оскільки транспортні витрати залежать в першу чергу від об'єму (а не від ваги), і оскільки сільськогосподарські культури часто збирають на значних відстанях від місця, де їх обробляють, то досить дорого транспортувати цукор при такій низькій густині, оскільки цукор займає всього лише від 5 до 10 % об'єму вантажівки. Щоб зменшити вартість виробництва етанолу з багатих на вуглеводи сільськогосподарських культур, бажано виробляти етанол у місці збору врожаю (або поблизу нього) даних сільськогосподарських культур, знижуючи транспортні витрати.

[0033] Клітини паренхіми в багатих на вуглеводи паренхімних тканинах є живими тканинами, а отже після збору здійснюють респірацію (дихання). Дихання включає перетворення кисню і цукру в клітинах паренхіми на вуглекислий газ і енергію для підтримки клітини. Після збору цукрових буряків, за рахунок дихання витрачається приблизно 200 г цукру на метричну тонну цукрових буряків за день, а в перші 5 днів після збору за рахунок дихання витрачається від приблизно 600 до 1500 г цукру за день на метричну тонну цукрових буряків. Якщо цукрові буряки містять приблизно 18 % цукру за вагою, то в метричній тонні цукрових буряків міститься приблизно 180 кг цукру, що призводить до втрати від 0,3 до 0,8 % цукру за день у перші 5 днів і 0,1 % цукру за день у наступні дні. З урахуванням того, що цукрові буряки можна зберігати протягом 100 днів перед переробкою, через дихання вони можуть втратити до 10 % свого вмісту цукру. Цукрова тростина, цукрове сорго і цукрова кукурудза втрачають аналогічні кількості цукру

під час зберігання. В даній галузі техніки існує потреба в зниженні обумовлених диханням втрат цукру за рахунок більш швидкого, ніж існуючі способи, перетворення вуглеводів на етанол. Після того, як вуглеводи в сільськогосподарських культурах перетворені на етанол, їх можна зберігати протягом тривалих періодів часу, що дозволяє неперервно одержувати етанол круглий рік. Бажаним є ефективніше використання капіталу, інвестованого в екстракцію за допомогою вальців, відгін етанолу і дистиляцію шляхом застосування такого обладнання цілий рік, а не тільки в період збору врожаю.

[0034] Якщо цукрові буряки зберігати в анаеробних (без кисню) умовах, то мікроорганізми заселять буряки і через 21 день повністю ферментують усі цукри в буряках, в основному в молочну кислоту та оцтову кислоту. Оскільки зовнішній шар цукрових буряків часто стирається і пошкоджується під час збору, то мікроорганізми можуть легше проникати в зовнішні шари цукрового буряку, що призводить до втрат цукру внаслідок ферментації в молочну кислоту та оцтову кислоту. Аналогічним чином, цукрова тростина, цукрове сорго і гібриди цукрової кукурудзи більш чутливі до мікроорганізмів, які проникають в серцевину, оскільки під час збору тростину розрізали на фрагменти.

[0035] При виробництві етанолу з багатих на вуглеводи сільськогосподарських культур, значну частину капітальних і виробничих витрат становить вартість нагрівання сировини. Ці витрати можна було би знизити (або виключити) шляхом застосування саморозігріву від енергії, що виділяється при ферментації.

[0036] Деякі методики одержання етанолу з багатих на вуглеводи сільськогосподарських культур вимагають попередньої обробки або ферментації всередині резервуара високого тиску. Оскільки резервуари високого тиску наражаються на небезпеку вибуху і вимагають більшої міцності, ніж резервуар без тиску, то було би вигідно, щоб резервуар високого тиску не був необхідним.

[0037] Іншими значними капітальними і виробничими витратами при виробництві етанолу з багатих на вуглеводи сільськогосподарських культур є витрати на охолодження реактора для ферментації. Було би бажаним застосування недорогого пасивного охолодження, такого як обдування повітрям металевих стінок резервуарів або циркуляція холодного вуглекислого газу через сільськогосподарську культуру.

КОРОТКИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

[0038] В даному винаході передбачений спосіб одержання продуктів ферментації з багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини, причому спосіб включає стадії:

[0039] (a) забезпечення багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини при температурі сільськогосподарської культури;

[0040] (b) об'єднання багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини з водним розчином реагенту, який містить ферментуючий організм, при температурі реагенту;

[0041] (c) забезпечення впливу на багату на вуглеводи паренхімну тканину рослини за допомогою тиску газоподібної фази при підготовці протягом часу підготовки або перед стадією (b), або після стадії (b), де тиск газоподібної фази при підготовці менше атмосферного тиску;

[0042] (d) забезпечення впливу на багату на вуглеводи паренхімну тканину рослини за допомогою тиску газоподібної фази при інфузії протягом часу інфузії, де тиск газоподібної фази при інфузії більше тиску газоподібної фази при підготовці; і

[0043] (e) підтримання тиску газоподібної фази при ферментації протягом часу ферментації для одержання продуктів ферментації в межах багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини, де тиск газоподібної фази при ферментації більше тиску газоподібної фази для підготовки, і де щонайменше 25 % маси продуктів ферментації становить етанол.

[0044] В переважних варіантах здійснення багату на вуглеводи паренхімну тканину рослини вибирають із групи, що складається зі стебел цукрової тростини, стебел цукрового сорго, стебел гібридів цукрової кукурудзи, коренеплодів цукрових буряків, яблук, винограду та апельсинів. В деяких варіантах здійснення багату на вуглеводи паренхімну тканину рослини вибирають із групи, що складається з бульб картоплі, бульб солодкої картоплі, бульб маніоку, бульб ямсу і бульб топінамбура.

[0045] В деяких варіантах здійснення водний розчин реагенту містить ферменти пектинази. В деяких варіантах здійснення водний розчин реагенту містить ферменти ксиланази. В деяких варіантах здійснення водний розчин реагенту містить ферменти амілази. В деяких варіантах здійснення водний розчин реагенту містить ферменти інулінази.

[0046] В переважних варіантах здійснення температура сільськогосподарської культури становить від приблизно 5 до приблизно 40 °C.

[0047] В переважних варіантах здійснення тиск газоподібної фази при підготовці становить від приблизно 105 до приблизно 200 % рівноважного тиску води при більшому з наступного: температури сільськогосподарської культури і температури реагенту.

[0048] В переважних варіантах здійснення час підготовки становить від приблизно 1 хвилини до приблизно 1 години.

[0049] В переважних варіантах здійснення ферментуючим організмом є Saccharomyces cerevisiae.

[0050] В переважних варіантах здійснення температура реагенту становить від приблизно 20 до приблизно 40 °С.

[0051] В переважних варіантах здійснення водний розчин реагенту є гомогенізованим. В деяких варіантах здійснення спосіб додатково включає перемішування водного розчину реагенту із застосуванням турбулентної енергії в діапазоні від приблизно 0,15 до приблизно 50 Вт/кг.

[0052] В переважних варіантах здійснення час інфузії становить від приблизно 1 хвилини до приблизно 1 години.

[0053] В переважних варіантах здійснення час ферментації становить від приблизно 6 годин до приблизно 7 днів.

[0054] В переважних варіантах здійснення тиск при ферментації являє собою атмосферний тиск.

[0055] В деяких варіантах здійснення спосіб додатково включає підтримку багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини в анаеробних умовах протягом часу зберігання сільськогосподарської культури після завершення часу ферментації.

[0056] В переважних варіантах здійснення спосіб додатково включає виділення продуктів ферментації за допомогою вакуумного відгону. В деяких варіантах здійснення спосіб додатково включає виділення продуктів ферментації за допомогою віджимання. В деяких варіантах здійснення спосіб додатково включає відведення водного розчину реагенту або перед стадією (е), або після стадії (е).

КОРОТКИЙ ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

[0057] Фіг. 1 являє собою схематичне креслення експериментального пристрою, що застосовується у варіантах здійснення і прикладах за даним винаходом.

ДОКЛАДНИЙ ОПИС ВАРІАНТІВ ЗДІЙСНЕННЯ ВИНАХОДУ

[0058] Способи, процеси і системи за даним винаходом будуть докладно описані з посиланням на різні необмежувальні варіанти здійснення та фігуру(-и).

[0059] Даний опис дозволить фахівцеві у даній галузі техніки виготовляти і застосовувати даний винахід, і в ньому описані декілька варіантів здійснення, адаптацій, варіантів, альтернатив і шляхів застосування даного винаходу. Ці та інші варіанти здійснення, ознаки та переваги даного винаходу стануть більш очевидними для фахівців у даній галузі техніки при розгляді з посиланням на наступний докладний опис даного винаходу у поєднанні з графічними матеріалами, що додаються.

[0060] Використовувані в даному описі та формулі винаходу, що додається, форми однини включають форми множини, якщо контекст явно не вказує на інше. Якщо не передбачено інше, то всі технічні та наукові терміни, використовувані в даному документі, мають те ж саме значення, яке є зазвичай зрозумілим фахівцеві в галузі техніки, до якої відноситься даний винахід.

[0061] Якщо не вказано інше, то всі числа, які виражають параметри, умови, результати тощо, використовувані в даному описі та формулі винаходу, слід розуміти як модифіковані у всіх випадках терміном "приблизно". Відповідно, якщо не вказано інше, то числа, наведені в наступному описі та формулі винаходу, що додається, являють собою наближені значення, які можуть змінюватися в залежності від конкретних алгоритмів і розрахунків.

[0062] Термін "що містить", який є синонімом терміну "що включає", "містить в собі" або "що характеризується", є таким, що включає або не обмежує і не виключає додаткових неперелічених елементів або стадій способу. "Що містить" є терміном галузі техніки, що використовується у формулюванні пункту формули винаходу, який означає, що названі елементи пункту формули є необхідними, але інші елементи пункту формули можуть бути додані і все ще утворюють конструктивний елемент у межах обсягу пункту формули винаходу.

[0063] Використовувана в даному документі фраза "складається з" виключає будь-який елемент, стадію або інгредієнт, не позначені в пункті формули винаходу. Якщо фраза "складається з" (або її варіації) з'являється у відмітній частині пункту формули винаходу, а не відразу після обмежувальної частини, то вона обмежує тільки елемент, викладений у даній відмітній частині; при цьому інші елементи в цілому не виключаються з пункту формули

винаходу. Використовувана у даному документі фраза "що фактично складається з" обмежує обсяг пункту формули винаходу вказаними елементами або стадіями способу, до яких додаються ще ті, які не чинять істотного впливу на основну і нову характеристику(-и) заявленого об'єкта винаходу.

[0064] Що стосується термінів "що містить", "що складається з" і "фактично складається з", коли один із цих трьох термінів використовується в даному документі, об'єкт даного винаходу, що розкривається і заявляється, може включати застосування будь-якого з двох інших термінів. Таким чином, в деяких варіантах здійснення, якщо інше не вказано у явному вигляді, будь-яке використання виразу "що містить" може бути замінено на "що складається з" або, альтернативно, "що фактично складається з".

[0065] Жоден з описаних в даному документі варіантів здійснення не повинен обмежуватися будь-якою теорією або припущенням щодо механізмів реакцій, механізмів масообміну або описами сировини чи продуктів.

[0066] Даний винахід ґрунтується на технічному рішенні проблеми великих витрат на виробництво продуктів ферментації з багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини через велику кількість енергії та капіталу, необхідних для ефективного віджимання або екстракції з дифузією в гарячу воду. В даному винаході застосовується альтернативний підхід, який полягає в інфузії реагентів для ферментації в умовах вакууму в апопласт багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини, забезпечуючи можливість ферментації і подальше відділення одержаного розчину етанолу із застосуванням недорогих методик, таких як вакуумний відгін. Принципи даного винаходу продемонстровані у прикладах, наведених у даному документі.

[0067] Даний винахід ґрунтується також на технічному рішенні проблеми руйнування багатих на крохмаль і багатих на інулін сільськогосподарських культур після збору і перед переробкою або споживанням. В даному винаході застосовується підхід на основі інфузії ферментуючих організмів в умовах вакууму в апопласт паренхімної тканини з ферментацією простих цукрів в етанол, позбавляючи тим самим інші організми простих цукрів, необхідних для заселення і споживання крохмалю або інуліну. Це призводить до середньої втрати, що становить 0,1 % маси багатої на вуглеводи тканини, і має перевагу, яка полягає в захисті крохмалю або інуліну від руйнування. Після того як прості цукри були ферментовані, єдиними організмами, які можуть руйнувати ці паренхімні тканини, будуть гриби, що ростуть на пектині, організми, що ростуть на етанолі, і організми, що ростуть на крохмалі або інуліні.

[0068] Більшість грибів, які ростуть на пектині, є аеробними, тому підтримка анаеробних умов запобігає колонізації паренхімної тканини цими грибами. Анаеробним грибам, які ростуть на пектині, особливо Rhizopus oryzae, для росту на пектині необхідна також глюкоза, таким чином підтримання умов із відсутністю глюкози, а також підтримання анаеробних умов, запобігає колонізації паренхімної тканини цими грибами.

[0069] Організми, які ростуть на етанолі, особливо Acetobacter, також є аеробними, таким чином підтримання анаеробних умов запобігає перетворенню цими організмами етанолу на оцтову кислоту.

[0070] Організмам, які ростуть на крохмалі, особливо Bacillus subtilis, необхідно отримувати доступ до крохмальних гранул всередині паренхімної тканини. Не бажаючи бути пов'язаними будь-якою конкретною теорією, вважають, що видалення глюкози в апопласті і всередині клітин паренхіми приводить до того, що організми, такі як Bacillus subtilis, не мають достатньо енергії для переміщення в межах паренхімної тканини.

[0071] При здійсненні ферментації дріжджі виробляють великі кількості вуглекислого газу, і інфузія дріжджів у багату на вуглеводи паренхімну тканину рослини призводить до утворення піни на зовнішньому ззовні даної тканини у ході ферментації, і виштовхує рідину з даної тканини під дією утворення бульбашок всередині тканини. Несподівано виявилось, що дріжджі не виштовхуються цими бульбашками, і дріжджі можуть продовжувати ферментацію до тих пір, поки всі прості цукри не будуть ферментовані.

[0072] Не бажаючи бути пов'язаними будь-якою конкретною теорією, вважають, що адгезія клітин дріжджів до клітин паренхіми у присутності глюкози сильніша, ніж сили, з якими діють бульбашки вуглекислого газу для виштовхування дріжджів із паренхімної тканини.

[0073] Даний винахід ґрунтується також на тому факті, що швидкість дифузії простих цукрів через клітинну мембрану клітин паренхіми в багатих на вуглеводи сільськогосподарських культур є достатньою, щоб забезпечити ферментацію простих цукрів у межах клітин паренхіми ферментуючими організмами в апопласті на високій швидкості. Потім етанол дифундує у клітини паренхіми. В деяких варіантах стінки клітин паренхіми не руйнуються, при цьому зберігається структурна міцність сільськогосподарської культури, що забезпечує можливість застосування недорогого вакуумного відгону. В інших варіантах пектинази руйнують стінки

клітин паренхіми, при цьому збільшується швидкість ферментації і зменшується енергія, необхідна для видалення води з тканини після вилучення етанолу.

[0074] В деяких варіантах в даному винаході передбачений спосіб одержання продуктів ферментації з багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини, при цьому спосіб включає стадії:

[0075] (a) забезпечення багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини при температурі сільськогосподарської культури;

[0076] (b) об'єднання багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини з водним розчином реагенту, який містить ферментуючий організм, при температурі реагенту;

[0077] (c) забезпечення впливу на багату на вуглеводи паренхімну тканину рослини за допомогою тиску газоподібної фази при підготовці протягом часу підготовки або перед стадією (b), або після стадії (b), де тиск газоподібної фази при підготовці менше атмосферного тиску;

[0078] (d) забезпечення впливу на багату на вуглеводи паренхімну тканину рослини за допомогою тиску газоподібної фази при інфузії протягом часу інфузії, де тиск газоподібної фази при інфузії більше тиску газоподібної фази при підготовці; і

[0079] (e) підтримання тиску газоподібної фази при ферментації протягом часу ферментації для одержання продуктів ферментації в межах багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини, де тиск газоподібної фази при ферментації більше тиску газоподібної фази для підготовки, і де щонайменше 25 % маси продуктів ферментації становить етанол.

[0080] Фахівцям у даній галузі техніки буде зрозуміло, що тиск газоподібної фази при підготовці може бути застосованим або перед, або після об'єднання багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини з водним розчином реагенту. Gras описує об'єднання перед застосуванням вакууму, а у прикладах, наведених нижче, описано об'єднання після застосування вакууму. Об'єднання перед застосуванням вакууму, описане в Gras, має перевагу у меншому часі одержання потрібного ступеня розрідження, оскільки необхідно відвести менший об'єм. Однак є недолік, який полягає у більш високому гідростатичному тиску в нижній частині великого резервуара. Для резервуара глибиною всього 1 м даний недолік не є суттєвим, але для більш глибоких резервуарів даний недолік може бути суттєвим.

[0081] Фахівцям у даній галузі техніки буде зрозуміло, що існує широкий спектр ферментуючих організмів, які виробляють етанол, і ці ферментуючі організми у присутності глюкози прилипають до поверхонь.

[0082] Вакуумну інфузію можна проводити із використанням резервуара обмеженої міцності, доверху заповненого бульбами або стеблами, і резервуара, що має гумовий балон на верхній частині при застосуванні вакууму, причому сила самої сільськогосподарської культури є тим, що утримує атмосферний тиск 100 кПа зовні резервуара. В результаті цього вартість резервуара для вакуумної інфузії є дуже низькою, а витрати на енергію для викачування повітря з такого резервуара для вакуумної інфузії також є досить низькими. В деяких варіантах здійснення таким резервуаром для вакуумної інфузії може слугувати, наприклад, вантажівка з розміщеним зверху гумовим балоном, яка привозить сільськогосподарську культуру з поля.

[0083] Відразу після інфузії водного розчину реагенту сільськогосподарську культуру можна перенести у ще більш дешевий резервуар для ферментації. Цей дешевший резервуар для ферментації необов'язково повинен бути герметичним, повинен просто закриватися досить щільно для того, щоб утримувати вуглекислий газ, який виробляється під час ферментації для підтримки анаеробних умов під час ферментації, запобігаючи тим самим руйнуванню етанолу бактеріями Acetobacter.

[0084] В переважних варіантах здійснення багату на вуглеводи паренхімну тканину рослини вибирають із групи, що складається зі стебел цукрової тростини, стебел цукрового сорго, стебел гібридів цукрової кукурудзи, коренеплодів цукрових буряків, яблук, винограду та апельсинів. Всі вони містять переважно прості цукри в паренхімній тканині і можуть бути ферментовані дріжджами без необхідності інфузії пектинази. Необов'язково, пектиназа прискорює ферментацію, хоч і за рахунок ускладнення і додаткових витрат на ферменти.

[0085] В деяких варіантах здійснення багату на вуглеводи паренхімну тканину рослини вибирають із групи, що складається з бульб картоплі, бульб солодкої картоплі, бульб маніоку, бульб ямсу і бульб топінамбура. Дані сільськогосподарські культури містять невелику кількість простих цукрів, від 0,01 до 2 % за вагою, а іншу частину вуглеводів складають полісахариди. У разі зберігання цих сільськогосподарських культур інфузія дріжджів буде забезпечувати перетворення невеликої кількості простих цукрів на етанол. Для перетворення полісахаридів у цих сільськогосподарських культурах на етанол, потрібна додаткова інфузія пектинази і амілази або інулінази.

[0086] В деяких варіантах здійснення водний розчин реагенту містить ферменти пектинази. В деяких варіантах здійснення водний розчин реагенту містить ферменти ксиланази. В деяких варіантах здійснення водний розчин реагенту містить ферменти амілази. В деяких варіантах здійснення водний розчин реагенту містить ферменти інулінази. У варіантах здійснення, для яких вимагається мінімальний виробіток метанолу як побічного продукту, переважним ферментом пектиназою є пектинліаза. Для руйнування стінки клітин паренхіми у дводольних необхідна комбінація пектинази та ксиланази.

[0087] В переважних варіантах здійснення температура сільськогосподарської культури становить від приблизно 5 до приблизно 40 °С. Цей температурний діапазон необхідний тому, що ферментуючі організми активні у цьому діапазоні.

[0088] В переважних варіантах здійснення тиск газоподібної фази при підготовці становить від приблизно 105 до приблизно 200 % рівноважного тиску води при більшому з наступного: температури сільськогосподарської культури і температури реагенту. Тиск повинен бути настільки низьким, наскільки це можливо, але при цьому не допускати закипання сільськогосподарської культури або реагенту.

[0089] В переважних варіантах здійснення час підготовки становить від приблизно 1 хвилини до приблизно 1 години. Для деяких сільськогосподарських культур відведення газу з апопласта займає більше часу, ніж для інших, зокрема для цукрової тростини та цукрового сорго.

[0090] В переважних варіантах здійснення ферментуючим організмом є Saccharomyces cerevisiae. Даний організм характеризується найвищою переносимістю етанолу, ніж будь-який інший ферментуючий організм, і при цьому доступними є багато гібридів.

[0091] В переважних варіантах здійснення температура реагенту становить від приблизно 20 до приблизно 40 °С. Ферментуючі організми добре ростуть в даному температурному діапазоні.

[0092] Температура реагенту повинна бути досить низькою, щоб вода у водному розчині реагенту не закипала в умовах тиску при підготовці, при цьому кипіння викликає швидке вивільнення пари у вигляді великих бульбашок. Оскільки вода зазвичай є основною складовою водного розчину реагенту, то рівноважні дані води можна використовувати для визначення температури реагенту при заданому тиску при підготовці, і навпаки. Наприклад, якщо температура реагенту становить приблизно 38 °С, то тиск при підготовці повинен бути більше приблизно 7 кПа.

[0093] В переважних варіантах здійснення водний розчин реагенту є гомогенізованим. В деяких варіантах здійснення спосіб додатково включає перемішування водного розчину реагенту із застосуванням турбулентної енергії в діапазоні від приблизно 0,15 до приблизно 50 Вт/кг.

[0094] Застосовується достатня кількість турбулентної енергії, так що колмогорівський масштаб довжин є на порядок меншим, ніж вільна довжина апопласта (наприклад, приблизно 10 мікрон). Використовуючи колмогорівський масштаб довжин і знаючи, що кінематична в'язкість води при 20 °С становить приблизно $10^{-6}$ $м^2/с$, енергія, необхідна для змішування реагентів і просування води у масштабі 10 мікрон, становить приблизно 50 Вт/кг. Аналогічним чином, для змішування у масштабі 20 мікрон потрібно приблизно 5 Вт/кг, а для змішування у масштабі 50 мікрон потрібно приблизно 0,15 Вт/кг.

[0095] Фахівцю із середньою кваліфікацією у даній галузі техніки буде зрозуміло, що існує багато простих змішувальних пристроїв, які здатні змішувати з таким типом енергії. Одним із таких простих змішувальних пристроїв є пластикова труба 25 мм у діаметрі і 8 метрів у довжину із шорсткістю труби 0,0014, яка забезпечує інфузію від атмосферного тиску (100 кПа) до вакууму, який становить 20 кПа, зі швидкістю 2,8 літри/с (6 CFM), при цьому під час інфузії вакуум підтримується вакуумним насосом. Значення потужності, що розсіюється в трубі через падіння тиску, становить 226,4 Вт. Загальний об'єм рідини в трубі становить 4,05 кг, таким чином потужність, що розсіюється на кг, становить приблизно 56 Вт/кг, чого достатньо для змішування у масштабі 10 мікрон (швидкість потоку, що приводиться як приклад, є достатньою для інфузії 18 $м^3$ за 1,8 години).

[0096] В переважних варіантах здійснення час інфузії становить від приблизно 1 хвилини до приблизно 1 години. Експерименти показали, що ефективність перетворення цукрів є відносно нечутливою до часу інфузії.

[0097] В переважних варіантах здійснення час ферментації становить від приблизно 6 годин до приблизно 7 днів. Експерименти показали, що час ферментації при концентрації дріжджів, що становить приблизно 2 клітин на клітину паренхіми, становитиме від приблизно 6 до 20 годин, в залежності від типу багатої на вуглеводи паренхіми рослини.

[0098] В переважних варіантах здійснення тиск при ферментації являє собою атмосферний тиск. Оскільки $CO_2$ виробляється постійно, і оскільки резервуари високого тиску є дорогими і небезпечними, відведення $CO_2$ при атмосферному тиску буде менш витратним.

[0099] В деяких варіантах здійснення спосіб додатково включає підтримку багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини в анаеробних умовах протягом часу зберігання сільськогосподарської культури після завершення часу ферментації. Коли умови є анаеробними, і в апопласті або клітинах паренхіми відсутні прості цукри, гриби і бактерії не можуть рости на пектині або етанолі.

[00100] В переважних варіантах здійснення спосіб додатково включає виділення продуктів ферментації за допомогою вакуумного відгону. В деяких варіантах здійснення спосіб додатково включає виділення продуктів ферментації за допомогою віджимання. В деяких варіантах здійснення спосіб додатково включає відведення водного розчину реагенту або перед стадією (e), або після стадії (e).

[00101] Вакуумний відгін є переважним, оскільки це ефективна і найбільш економічна методика виділення продуктів ферментації. Вакуумний відгін етанолу можна проводити за допомогою такого самого резервуара, як і при вакуумній інфузії, але з додатковою можливістю нагрівання сільськогосподарської культури. Відведення водного розчину реагенту приводить до більш високої процентної частки етанолу у парі, що відганяється.

[00102] Фахівцю із середньою кваліфікацією у даній галузі техніки буде зрозуміло, що підвищення температури під час ферментації можна обмежувати до приблизно 38 °C за допомогою різних недорогих методик, особливо якщо ферментація займає більше ніж приблизно 20 годин.

[00103] Фахівцю із середньою кваліфікацією у даній галузі техніки буде зрозуміло, що відомий пристрій можна застосовувати для процесів, систем і способів, розкритих у даному документі. Процеси, описані у даному документі, можуть бути періодичними, неперервними, напівнеперервними або псевдонеперервними. Будь-яке згадування у даному документі виразів "резервуар" або "реактор" має бути витлумачено в сенсі одного або багатьох таких пристроїв (наприклад, сполучених послідовно або паралельно). Можуть вимагатися або спостерігатися різні схеми потоку. З хімічними реакціями і одночасними масообмінними процесами за участю декількох фаз динаміка рідин може бути досить складною. Залежно від конкретної конструкції, схеми потоку можуть бути наближені до поршневого потоку або добре перемішаного потоку.

[00104] Вироблення, або продуктивність процесу, може змінюватися в широких межах від невеликих лабораторних установок до повноцінних промислових підприємств з переробки біомаси, в тому числі будь-які експериментальні, демонстраційні або напівпромислові установки. В різних варіантах здійснення продуктивність процесу становить щонайменше приблизно 1 кг/день, 10 кг/день, 100 кг/день, 1 тонна/день (усі тонни є метричними тоннами), 10 тонн/день, 100 тонн/день, 500 тонн/день, 1000 тонн/день, 2000 тонн/день або більше.

[00105] Вся система може бути закріплена нерухомо, або може бути виконана як пересувна. Система може бути сконструйована із застосуванням модулів, які можна просто дублювати для практичного розширення масштабів.

[00106] Різні зонди можуть забезпечувати можливість ретельного моніторингу процесу і контролю на різних стадіях процесу, аж до, і потенційно включаючи, всі стадії процесу. Очікується, що ретельний моніторинг процесу приведе до збільшення кількості виробленого продукту та покращення ефективності як у динамічному режимі, так і за певний період часу, при цьому історія експлуатації може бути використана для корекції умов процесу (в тому числі програми циклічної зміни тиску). В деяких варіантах здійснення реакційний зонд розташований у функціональній взаємодії із зоною, в якій відбувається процес. Даний реакційний зонд може бути корисним для екстракції рідких зразків та їх аналізу з метою визначення ступеню гідролізу або складу цукрів тощо. Корекція процесу може ґрунтуватися на результатах вимірювань, якщо це є необхідним або бажаним, шляхом застосування добре відомих принципів контролю процесу (зворотній зв'язок, прямий зв'язок, пропорційно-інтегрально-диференційна логічна схема тощо).

[00107] Потоки твердих речовин, рідин і газів, що виробляються або існують у рамках процесу, можуть бути незалежно один від одного рециркульовані, передані на наступні стадії або виділені/виведені із процесу в будь-який момент.

ПРИКЛАДИ

[00108] Наступні приклади демонструють принципи даного винаходу. За допомогою експериментальних даних було показано, що вакуумна інфузія вищеописаних дріжджів і ферментів може бути застосовна для ферментації багатих на вуглеводи сільськогосподарських культур.

[00109] Експериментальний пристрій на Фіг. 1 розроблений для відтворення функціональних параметрів промислового процесу, таких як температура, тиск і контроль потоку в промисловій установці. Він відрізняється від промислової установки завантаженням і вивантаженням сільськогосподарської культури (зразка). Експериментальний пристрій використовували в усіх нижченаведених прикладах.

[00110] З посиланням на Фіг. 1, експериментальний пристрій 100 складається з основного резервуара 102 для інфузії, який під час експлуатації майже повністю занурений у термостатичну баню 101, яка може працювати в широкому діапазоні температур і точний контроль температури якої забезпечується за допомогою регулятора 114 температури. Резервуар 102 для інфузії закривається знімною і герметичною кришкою 118. Резервуар 102 для інфузії і герметична кришка 118 сконструйовані таким чином, щоб утримувати та підтримувати вакуумні умови, як того вимагають умови процесу. Необхідну кількість матеріалу зразка 117 можна поміщати всередину резервуара 102 для інфузії. В резервуар 102 для інфузії можна подавати $CO_2$ за допомогою балона 106 з $CO_2$ і трубопроводу 107 для $CO_2$. На трубопроводі 107 для $CO_2$ використовується регулятор 108 потоку/тиску, щоб задавати тиск, при якому $CO_2$ доставляється в резервуар 102 для інфузії. Вакуумний насос 103 використовується для відкачування та підтримання вакууму всередині резервуара 102 для інфузії. Індикатор 116 тиску та індикатор 119 температури встановлені на резервуарі 102 для інфузії. Резервуар для інфузії 102 сполучений за допомогою запірного клапана 109 з контейнером 105 із підготовленим водним розчином реагенту. Вакуумний насос 103 сполучений із резервуаром 102 для інфузії за допомогою трубопроводу, на якому встановлений регулятор 110 тиску. Регулятор 110 тиску забезпечує можливість регулювання тиску в резервуарі 102 для інфузії у широкому діапазоні рівнів вакууму, в той час як вакуумний насос 103 працює при постійній швидкості. Відвідний отвір 112 на регуляторі 110 тиску сполучений із газовим лічильником. Чотириходовий клапан 104 на лінії виходу газу з резервуара 102 для інфузії забезпечує можливість вилучення зразків через канал 111 для відбору проб, ізоляції резервуара 102 для інфузії, циклічної зміни тиску 116 і рециркуляції частини зразка назад в резервуар 102 для інфузії без зміни тиску і складу газової шапки всередині нього.

[00111] Експериментальна процедура для нижченаведених прикладів є наступною. Попередньо змішаний водний розчин реагенту готували окремо, відповідно до конкретних вимог експерименту; необов'язково водний розчин реагенту може бути попередньо нагрітим до необхідної температури. Зразок сільськогосподарської культури поміщали всередину резервуара для інфузії 102. У резервуарі для інфузії 102 відсутня будь-яка рідина. Резервуар для інфузії 102 поміщають у термостатичну баню 101, яка працює при температурі, заданій для експерименту. Після того, як кришку 118 поміщають зверху резервуара для інфузії 102, за допомогою вакуумного насоса 103 і $CO_2$ з трубопроводу 107 все повітря випускають, і на поверхні зразка утворюється атмосфера $CO_2$. Після підтвердження випуску всього залишкового повітря, потік свіжого $CO_2$ з трубопроводу 107 перериваєтся шляхом впливу на регулятор потоку 115. Тиску в резервуарі 102 для інфузії дають опуститися до заданого в експерименті рівня шляхом його регулювання за допомогою регулятора 110 тиску.

[00112] Як тільки тиск і температура стабілізуються на необхідному рівні, вільну рідину, яка була витіснена із сільськогосподарської культури при падінні тиску, можна необов'язково відвести з резервуара через канал 111 для відбору проб і зберегти для подальшого аналізу. Потім запірний клапан 109 відкривали і забезпечували можливість попадання попередньо змішаного водного розчину реагенту в резервуар 102 для інфузії, при цьому відбувається інфузія. Кількість матеріалу зразка задавали так, щоб у залежності від об'ємної густини матеріалу зразок був повністю зануреним, як тільки перериваєтся подача рідини. При точно вибраних температурі і тиску кипіння рідини можна уникнути (кипіння викликає значне вивільнення бульбашок газу). Після того як інфузія завершується і запірний клапан 109 закриваєтся, встановлюєтся парціальний тиск $CO_2$, що становить 1,0 атм., шляхом відкривання та регуляції за допомогою регулятора 108 потоку і тиску.

[00113] Після того, як рідину було інфузовано у сільськогосподарську культуру при тиску 1,0 атм. протягом необхідного часу, вільну рідину можна необов'язково відвести з резервуара через канал 111 для відбору проб.

[00114] Потім експеримент може тривати протягом усього необхідного періоду часу. Якщо під час експерименту необхідним є рідкий зразок, то шприц можна під'єднати до каналу 111 для відбору проб чотириходового клапана 104, котрий встановлений таким чином, щоб забезпечити можливість заповнення шприца рідиною. Будь-яка залишкова рідина стікає назад в резервуар через трубку чотириходового клапана, як тільки шприц вилучено і канал 111 для відбору проб закритий.

[00115] Хід ферментації вимірюють за допомогою газу, що виробляється у відвідному отворі 112 за допомогою MilliGascounter типу MGC-1 від Dr.-Ing. Ritter Apparatebau GmbH & Co. KG, Бохум, Німеччина. Кількість газу, що виробляється, вимірюють при виявленні в мілілітровій кількості протягом періоду ферментації. При ферментації 3,35 г (зазвичай сахарози) виробляється 1 л газу ($CO_2$), так що про кількість ферментованого цукру, швидкість ферментації та загальну кількість ферментованого цукру можна судити за графіком утвореного газу в залежності від часу.

[00116] В наступних прикладах використаний цукровий буряк з північної Міннесоти, цукрова тростина з Флориди і цукрове сорго з Теннессі. З кожної рослини вичавлювали сік і вимірювали вміст цукру за шкалою Брікса за допомогою цифрового рефрактометра. Зразки кожної рослини висушували до постійної ваги для визначення відсотка сухих твердих речовин. Їх об'єднували для розрахунку відсотка (вага/вага) цукрів у цих культурах.

[00117] Слід зазначити, що вимірювання соку цукрового сорго за шкалою Брікса коректували шляхом множення на приблизно 0,8, щоб одержати процентний вміст за вагою загальних цукрів. Це обумовлено тим, що в соку цукрового сорго є більше глюкози і фруктози, ніж у соку цукрового буряку або цукрової тростини, а показник заломлення глюкози та фруктози відрізняється від показника сахарози. Це описано в Liu et al., "Refining bioethanol from stalk juice of sweet sorghum by immobilized yeast fermentation", Renewable Energy 33.5 (2008): 1130-1135, яка включена в даний документ за допомогою посилання.

[00118] Було розраховано, що в цукровому буряку міститься 18 % цукру за вагою, в цукровій тростині міститься 14 % цукру за вагою, а в цукровому сорго міститься 10 % цукру за вагою.

[00119] Приклад 1. Інфузія води в паренхімну тканину цукрового буряку

[00120] Шматочки цукрового буряку нарізали радіально на три різні товщини, 6 мм, 12 мм і 18 мм. Потім ці шматочки нарізали на квадратні шматочки по 25 мм і усі квадратні шматочки по 25 мм для кожної з трьох товщин зважували і поміщали у три вищеописані пристрої (Фіг. 1). В даному прикладі газовою шапкою служило повітря.

[00121] Під час фази 1 протягом 30 хвилин застосовували вакуум, який становив 13 кПа, вільну воду видаляли, тиск відновлювали до 100 кПа і кожний кубик зважували.

[00122] Під час фази 2 протягом 30 хвилин застосовували вакуум, який становив 13 кПа, воду вливали в умовах вакууму, поки вона не покривала кубик, тиск відновлювали до 100 кПа, воду інфузували в паренхімну тканину протягом 30 хвилин, вільну воду видаляли і потім кожний кубик зважували.

[00123] Під час фази 3 протягом 30 хвилин застосовували вакуум, який становив 13 кПа, вільну воду видаляли, тиск відновлювали до 100 кПа і кожний кубик зважували.

[00124] Результат даного тесту показаний у таблиці 1 нижче, і цей результат показав, що приблизно 10 % від маси паренхімної тканини виділялося з тканини при застосуванні вакууму протягом 30 хвилин. Він також показав, що приблизно 6 % від маси паренхімної тканини можна інфузувати водою в умовах вакууму, і що приблизно половина її виділяється з тканини під час повторного застосування вакууму. Що більш важливо, даний приклад показав, що інфузія була практично ідентичною у тканині товщиною 6 мм і тканині товщиною 18 мм.

Таблиця 1

Маса шматочків цукрового буряку

| Товщина | Початкова маса | Маса у фазі 1 | Маса у фазі 2 | Маса у фазі 3 |
|---|---|---|---|---|
| 6 мм | 5,985 г | 5,389 г | 5,695 г | 5,604 г |
| 12 мм | 8,987 г | 8,358 г | 8,761 г | 8,312 г |
| 18 мм | 14,782 г | 13,194 г | 14,32 г | 13,557 г |

[00125] Приклад 2. Ферментація цукрової тростини

[00126] У нарізану цукрову тростину інфузували слабокислий розчин дріжджів, доповнений поживними речовинами, збагаченими азотом (Fermax від BSG Corporation). Два різних розчини тестували у двох повторах, один із використанням дріжджів Thermosacc, а інший із використанням дріжджів Distillamax. Обидва види дріжджів комерційно доступні від Lallemand Biofuels & Distilled Spirits і відрізняються середнім розміром протопластів. У дріжджів Thermosacc середній діаметр клітин становить 5 мікрон, а у Distillamax середній діаметр клітин становить 10 мікрон. Після завершення інфузії за допомогою газових лічильників з метою оцінки ходу ферментації відстежували виробіток вуглекислого газу. Застосовували наступну процедуру:

[00127] 1. Починали нагрівання термостатичної бані до 38 °С.

[00128] 2. Зважували приблизно 50 г цукрової тростини, потім подрібнювали на шматки довжиною приблизно один дюйм, після подрібнення знову зважували загальну кількість тростини.

[00129] 3. Готували два розчини дріжджів, один із розрахунку 5 г/л дріжджів Distillamax, 1 г/л поживних речовин Fermax, а інший із розрахунку 5 г/л дріжджів Thermosacc (C6), 1 г/л поживних речовин Fermax, обидва доводили до pH 3,5 за допомогою фосфорної кислоти.

[00130] 4. Поміщали цукрову тростину в герметичних стаканах у термостатичну баню і застосовували вакуум протягом 30 хв., щоб забезпечити повне відведення газу з біомаси.

[00131] 5. Вливали в кожний стакан приблизно 200 г розчину.

[00132] 6. Повільно відновлювали атмосферний тиск, створюючи над вмістом стакана шапку з інертного газу.

[00133] 7. Відкривали відвідний отвір для газу, щоб газ міг пройти через вимірювачі потоку газу.

[00134] 8. Залишали ферментацію проходити до завершення, в той же час проводили реєстрацію результатів вимірювання потоку газу.

[00135] Досліди із застосуванням зразків із дріжджами Thermosacc і Distillamax проводили в двох повторах, і результати з найбільшим виходом газу представлені у таблиці 2. Обидві ферментації повністю завершилися трохи менше ніж за 8 годин.

[00136] В обох випадках інфузія забезпечувала можливість здійснення ферментації всередині стебла цукрової тростини з мінімальною попередньою обробкою субстрату, крім зменшення великих фрагментів. Несподіваним чином, більш дрібні клітини дріжджів виявилися більш ефективними, забезпечуючи перетворення більшої кількості цукру, про що свідчить великий виробіток газу. Цей результат узгоджується з тим, що більш дрібні дріжджі здатні дифундувати глибше всередину апопласта цукрової тростини. В обох випадках вакуумна інфузія забезпечувала можливість активної ферментації in-situ, як показано в таблиці 2.

Таблиця 2

Ефективність ферментації цукрової тростини

| Зразок | Вага зразка (г) | Вміст цукру (г) | Теоретичний виробіток $CO_2$ (л) | Фактичний виробіток $CO_2$ (л) | Вихід |
|---|---|---|---|---|---|
| Thermosacc | 44,10 | 6,17 | 1,84 | 1,80 | 97,8 % |
| Distillamax | 43,10 | 6,03 | 1,80 | 1,20 | 66,6 % |

[00137] Приклад 3. Ферментація цукрового буряку

[00138] В крупно нарізані шматки цукрового буряка інфузували слабокислий розчин дріжджів, приготований із дріжджів Distillamax від Lallemand Biofuels & Distilled Spirits. Для кожного зразка застосовували різний час інфузії. Після завершення інфузії за допомогою газових лічильників з метою оцінки ходу ферментації відстежували виробіток вуглекислого газу. Застосовували наступну процедуру:

[00139] 1. Забезпечували, щоб температура термостатичної бані становила 38 °С.

[00140] 2. Зважували приблизно 100 г цукрового буряку, потім подрібнювали на шматки у вигляді кубиків розміром приблизно один дюйм, після подрібнення загальну кількість буряків знову зважували.

[00141] 3. Готували розчин дріжджів з 5 г/л дріжджів Distillamax, доводили до pH 3,5 за допомогою фосфорної кислоти.

[00142] 4. В розчин для зразків 2 і 4 додавали фермент з пектиназною активністю при завантаженні, що становило приблизно 5 г на кг сухої біомаси.

[00143] 5. Поміщали зразок цукрового буряку в герметичних стаканах в термостатичну баню і застосовували вакуум протягом 30 хв.

[00144] 6. Вливали достатню кількість розчину, щоб покрити усі шматки буряку.

[00145] 7. Миттєво скидали тиск у випадку зразків 1 і 2, і повільно (приблизно за 5 хвилин) у випадку зразків 3 і 4.

[00146] 8. Під'єднували газові лічильники.

[00147] 9. Залишали ферментацію проходити до завершення.

[00148] Розмір зразка і кількість газу, що виробляється при ферментації кожного з цих 4 зразків цукрового буряку, представлені в таблиці 3. Обидві ферментації повністю завершилися за 13-15 годин. Час інфузії істотним чином не впливав на загальний вихід перетворення цукрів, оскільки цей вихід становив понад приблизно 90 % для випадків швидкої інфузії (зразки 1 і 2). Повільна інфузія, імовірно, є дещо руйнівною. Додавання ферменту пектинази, котрий руйнує клітинну стінку, скоріше за все, покращує ферментацію і додатково ілюструє можливість доставки in situ за допомогою вакуумної інфузії ферментної та мікробіологічної активності без механічного перемішування і мінімальної попередньої обробки біомаси.

Таблиця 3

Ефективність ферментації цукрового буряку

| Зразок | Вага зразка (г) | Вміст цукру (г) | Теоретичний виробіток $CO_2$ (л) | Фактичний виробіток $CO_2$ (л) | Вихід |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 92,623 | 16,67 | 4,98 | 4,50 | 90,4 % |
| 2 | 91,826 | 16,53 | 4,93 | 4,75 | 96,2 % |
| 3 | 92,269 | 16,61 | 4,96 | 4,40 | 88,7 % |
| 4 | 90,944 | 16,37 | 4,89 | 4,48 | 91,6 % |

[00149] Приклад 4. Ферментація цукрового сорго

[00150] Для ферментації цукрового сорго застосовували таку саму процедуру, як описана в прикладі 2 вище. Замість варіювання типу дріжджів, у випадку обох зразків застосовували дріжджі Thermosacc. Після інфузії зі стебел в одному зразку відводили рідину, а в іншому зразку рідину не відводили.

[00151] Результати цих ферментацій представлені в таблиці 4. Обидві ферментації повністю завершилися трохи менше ніж за 20 годин.

[00152] Несподівано ефективність ферментації при відведенні рідини зі стебел була вищою, ніж ефективність при збереженні рідини біля стебел. Однак в обох випадках вакуумна інфузія забезпечувала можливість активної ферментації in-situ.

Таблиця 4

Ефективність ферментації цукрового сорго

| Зразок | Вага зразка (г) | Вміст цукру (г) | Теоретичний виробіток $CO_2$ (л) | Фактичний виробіток $CO_2$ (л) | Вихід |
|---|---|---|---|---|---|
| З відведенням води | 51,1 | 5,11 | 1,53 | 1,52 | 99,3 % |
| Без відведення води | 52,0 | 5,20 | 1,55 | 1,33 | 85,8 % |

[00153] Приклад 5. Ферментація картоплі

[00154] В крупно нарізані шматки картоплі інфузували слабокислий розчин дріжджів, приготований із дріжджів Thermosacc від Lallemand Biofuels & Distilled Spirits. В один зразок додатково інфузували ферменти α-амілази від BSG Handcraft із Шакопі, Міннесота, США. Дана α-амілаза характеризується максимальною активністю при 66 °C і приблизно 20 % активністю при 38 °C. Після завершення інфузії за допомогою газових лічильників з метою оцінки ходу ферментації відстежували виробіток вуглекислого газу. Застосовували наступну процедуру:

[00155] 1. Забезпечували, щоб температура термостатичної бані становила 38 °C.

[00156] 2. Зважували приблизно 70 г картоплі, потім подрібнювали на шматки у вигляді кубиків розміром приблизно один дюйм, після подрібнення загальну кількість картоплі зважували.

[00157] 3. Готували розчин дріжджів з 5 г/л дріжджів Thermosacc, доводили до pH 3,5 за допомогою фосфорної кислоти.

[00158] 4. В розчин для зразка 2 додавали фермент з α-амілазною активністю при завантаженні, що становило 5 г на кг сухої речовини.

[00159] 5. Поміщали зразок картоплі в герметичних стаканах в термостатичну баню і застосовували вакуум протягом 30 хв.

[00160] 6. Вливали достатню кількість розчину, щоб покрити усі шматки картоплі.

[00161] 7. Миттєво скидали тиск.

[00162] 8. Під'єднували газові лічильники.

[00163] 9. Залишали ферментацію проходити протягом приблизно 120 годин.

[00164] Розмір зразка і кількість газу, що виробляється при ферментації кожного з цих 2 зразків картоплі, представлені в таблиці 5. Фахівцям у даній галузі техніки буде зрозуміло, що в клітинах паренхіми картоплі міститься приблизно 0,5-2 % простих цукрів (сахароза + глюкоза) і приблизно 18 % крохмалю, приблизно 80 % якого може розщеплюватися до глюкози, мальтози та мальтотріози за допомогою α-амілази. Ферментація обох зразків зайняла 14,5 годин, поки не починала вироблятися вимірювана кількість газу.

[00165] Не бажаючи бути пов'язаними будь-якою конкретною теорією, вважають, що такий тривалий час індукції був частково викликаний тим, що вихідний вироблений $CO_2$ був поглинутий водою в картоплі, і вироблення газу почалося, коли вода в картоплі наситилася $CO_2$. Фахівцям у даній галузі техніки буде зрозуміло, що розчинність $CO_2$ у воді при 38 °C становить приблизно 1,6 г/л, що 0,076 л тканини картоплі містить приблизно 0,608 л води і що приблизно 0,042 л $CO_2$ розчиниться в 0,076 л картоплі до появи першої бульбашки.

[00166] Після 120 годин ферментації в зразку 1 виробилося 0,155 л газу, а в зразку 2 виробилося 1,27 л газу. В зразку 1 вимірювана кількість газу в період від 72 до 120 годин не вироблялася, що вказує на те, що всі прості цукри в апопласті та клітинах паренхіми були ферментовані, і що додаткові прості цукри не вивільнялися з крохмальних гранул. Це вказує на те, що інфузія дріжджів буде зберігати багату на крохмаль паренхімну тканину.

[00167] Значно вищий виробіток газу в зразку 2 вказує на те, що α-амілаза дифундує в клітини паренхіми і гідролізує приблизно 40 % крохмальних гранул до цукрів, які могли ферментувати дріжджі. Виробіток газу був безперервним протягом 120 годин ферментації з повільним зменшенням. Даний приклад демонструє, що за допомогою даної методики можна ферментувати крохмальні гранули всередині клітин паренхіми шляхом простої інфузії дріжджів і амілази, без інфузії пектинази. Він також показує, що мембрана клітин паренхіми є проникною для ферментів амілаз.

Таблиця 5

Ефективність ферментації картоплі

| Зразок | Вага зразка (г) | Сахароза+ Глюкоза+ Мальтоза (г) | Теоретичний виробіток $CO_2$ (л) | Фактичний виробіток $CO_2$ (л) | Вихід |
|---|---|---|---|---|---|
| Тільки дріжджі | 76 | 0,76 | 0,227 | 0,155+0,042 | 87 % |
| Дріжджі + амілаза | 74 | 10,65 | 3,18 | 1,27 | 40 % |

[00168] В даному докладному описі було зроблено посилання на декілька варіантів здійснення і на графічні матеріали, що додаються, в яких з ілюстративною метою показані конкретні, наведені як приклад варіанти здійснення даного винаходу. Такі варіанти здійснення описані для того, щоб фахівці у даній галузі техніки змогли здійснити даний винахід на практиці, і слід розуміти, що модифікації різних розкритих варіантів здійснення можуть бути зроблені фахівцем у даній галузі.

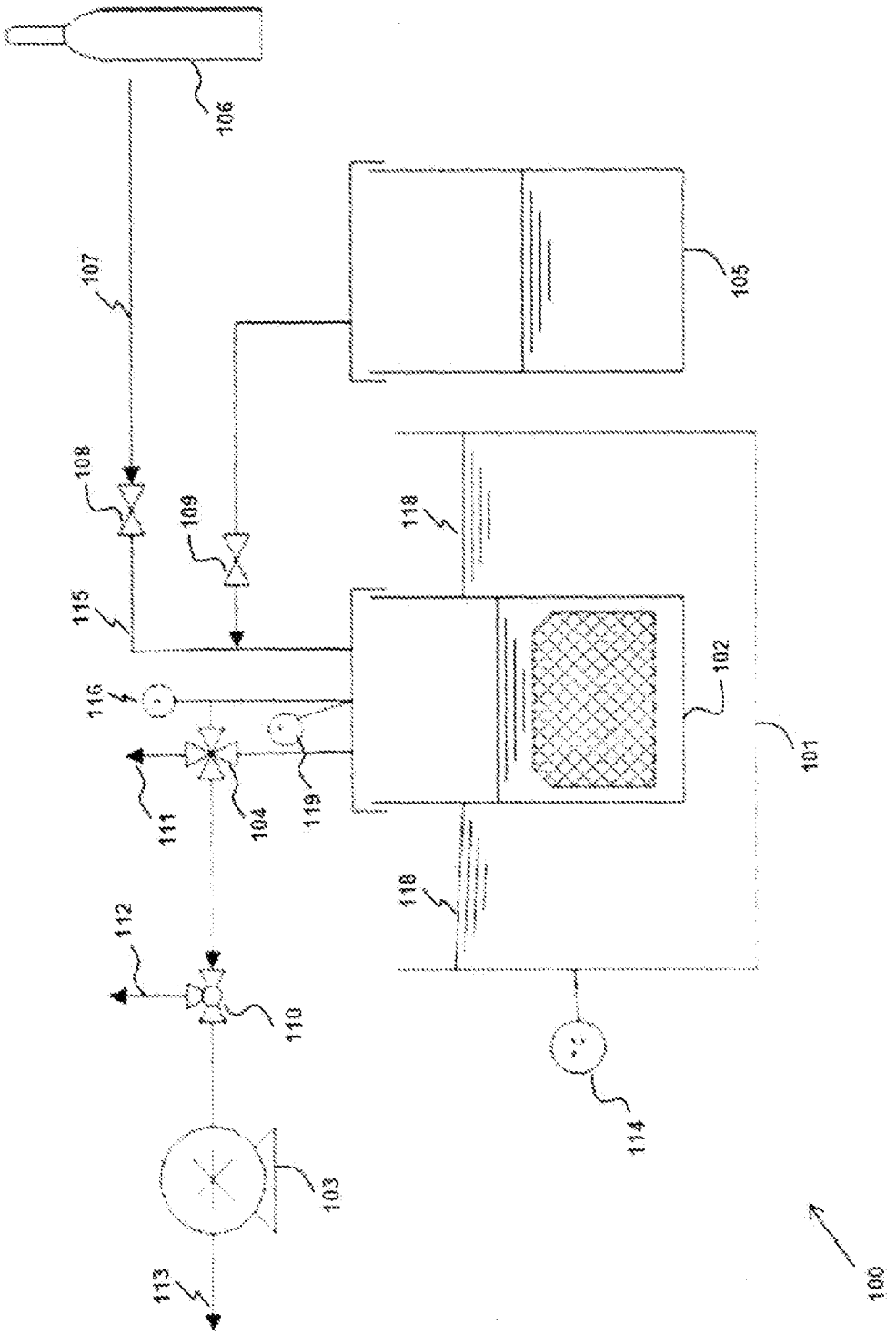
[00169] Там, де вищеописані способи і стадії вказують на певні події, що відбуваються у певному порядку, фахівцям у даній галузі техніки буде зрозуміло, що порядок певних стадій може бути змінений, і що такі модифікації знаходяться у повній відповідності з варіаціями даного винаходу. Крім того, деякі стадії можуть виконуватись одночасно в паралельному процесі, коли це можливо, а також виконуватися послідовно.

[00170] Всі публікації, патенти та заявки на патенти, що згадуються в даному описі, включені в даний документ за допомогою посилання у всій своїй повноті як якби кожна публікація, патент або заявка на патент були конкретно й окремо викладені в даному документі.

[00171] Вищеописані варіанти здійснення, варіації та фігури повинні давати уявлення про корисність і універсальність даного винаходу. Інші варіанти здійснення, які не передбачають усіх ознак і переваг, викладених у даному документі, також можуть бути використані без відступу від суті та обсягу даного винаходу. Такі модифікації і варіації вважаються такими, що входять в обсяг даного винаходу, який визначається формулою винаходу. У випадку конфлікту у визначеннях між даним розкриттям і словником або іншим довідковим джерелом даний опис буде мати переважну силу.

## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб одержання продуктів ферментації з багатої на вуглеводи паренхімної тканини рослини, причому спосіб включає стадії:
(a) забезпечення сировини, що містить багату на вуглеводи паренхімну тканину рослини з апопластом при температурі сільськогосподарської культури від приблизно 5 до приблизно 40 °C,
(b) об'єднання сировини з водним розчином реагенту, який містить дріжджі, при температурі реагенту від приблизно 20 до 40 °C,
(c) піддавання сировини тиску газоподібної фази при підготовці протягом часу підготовки або перед стадією (b), або після стадії (b), де тиск газоподібної фази при підготовці є меншим за атмосферний тиск,
(d) піддавання сировини тиску газоподібної фази при інфузії протягом часу інфузії, де тиск газоподібної фази при інфузії є більшим тиску газоподібної фази при підготовці,
(e) відведення вільної рідини, яку не було уведено в апопласт, та
(f) після стадії (e) підтримання тиску газоподібної фази при ферментації протягом часу ферментації для одержання продуктів ферментації в апопласті без повторного введення водного розчину реагенту в сировину, де тиск газоподібної фази при ферментації є більшим за тиск газоподібної фази при підготовці, де продукти ферментації отримують ферментацією вуглеводів, вибраних з групи, що складається з простих цукрів, гідролізованих з крохмалю, простих цукрів, гідролізованих з інуліну, та їх комбінацій, і де продуктами ферментації є етанол та вуглекислий газ.
2. Спосіб за п. 1, де сировину вибирають із групи, що складається зі стебел цукрової тростини, стебел цукрового сорго, стебел гібридів цукрової кукурудзи, коренеплодів цукрового буряку, яблук, винограду, апельсинів та їх комбінацій.
3. Спосіб за п. 1, де сировину вибирають із групи, що складається з бульб картоплі, бульб солодкої картоплі, бульб маніоку, бульб ямсу, бульб топінамбура та їх комбінацій.
4. Спосіб за п. 1, де водний розчин реагенту містить ферменти пектинази.
5. Спосіб за п. 1, де водний розчин реагенту містить ферменти ксиланази.
6. Спосіб за п. 1, де водний розчин реагенту містить ферменти амілази.
7. Спосіб за п. 1, де водний розчин реагенту містить ферменти інулінази.
8. Спосіб за п. 1, де тиск газової фази при підготовці становить від приблизно 105 % до приблизно 200 % тиску насиченої водяної пари при вищій з температур сільськогосподарської культури та реагенту.
9. Спосіб за п. 1, де час підготовки становить від приблизно 1 хвилини до приблизно 1 години.
10. Спосіб за п. 1, де дріжджі представлено видом *Saccharomyces cerevisiae*.
11. Спосіб за п. 1, де водний розчин реагенту є гомогенізованим.
12. Спосіб за п. 11, який включає перемішування вказаного водного розчину реагенту.
13. Спосіб за п. 1, де час інфузії становить від приблизно 1 хвилини до приблизно 1 години та тиск при інфузії є атмосферним тиском.
14. Спосіб за п. 1, де вказаний час ферментації становить від приблизно 6 годин до приблизно 7 днів.
15. Спосіб за п. 1, де вказаний тиск при ферментації є атмосферним тиском.
16. Спосіб за п. 1, який додатково включає підтримання сировини в анаеробних умовах протягом часу зберігання сільськогосподарської культури після завершення ферментації.
17. Спосіб за п. 1, який додатково включає виділення вказаних продуктів ферментації за допомогою вакуумного відгону.
18. Спосіб за п. 1, який додатково включає виділення вказаних продуктів ферментації за допомогою віджимання.




Фіг. 1

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601