

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl<sup>7</sup>

C13K 1/02

## [12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 93109499.2

[45]授权公告日 2000年2月9日

[11]授权公告号 CN 1049250C

[22]申请日 1993.8.6 [24]颁证日 1999.12.10

[21]申请号 93109499.2

[30]优先权

[32]1992.8.6 [33]US[31]926,739

[32]1993.7.27 [33]US[31]069,972

[73]专利权人 得克萨斯 A&M 大学系统

地址 美国得克萨斯州

[72]发明人 M·T·霍尔茨阿普

R·R·戴维森 M·纳格华尼

[56]参考文献

EP004500 1982. 2. 10 D21C3/02

JP 昭 58-98093 1983. 6. 10 C12P19/14

审查员 李斌卫

[74]专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 章鸣玉

权利要求书 6 页 说明书 41 页 附图页数 8 页

[54]发明名称 生物物质预处理的方法

[57]摘要

本发明涉及含木素纤维素的生物物质的预处理方法,即加氢氧化钙和水到生物物质中,使混合物在较高温度下保温一段足以使生物物质经受消化作用的时间。将预处理的生物物质消化以产生有用产物如原料,燃料和脂肪酸、糖、酮和醇类等化学物质。预处理过程还包括在加压下加入选自氧和含氧气体的氧化剂到混合物中。本发明还涉及从经预处理的生物物质中回收钙的方法。

ISSN 1008-4274

## 权 利 要 求 书

1. 预处理含木素纤维素的生物物质的方法，其特征在于包括以下步骤：

a) 形成混合物，包括生物物质、2-30g 氧化钙或氢氧化钙/100g 干生物物质、6-19g 水/100g 干生物物质，及氧化剂；

b) 在室温以下、150 °C 的温度下将混合物保温 1-36 小时来预处理生物物质以氧化木素而不降解木素纤维素，使经预处理的生物物质含有易于水解的葡萄糖量，该量大于预处理前生物物质中所含葡萄糖总量的 77 %。

2. 按权利要求 1 所述的方法，其中含木素纤维素的生物物质含大于 20% 的木素。

3. 按权利要求 1 所述的方法，其中，在 20 至 500 psig 的压力下将氧化剂加到混合物中。

4. 按权利要求 1 所述的方法，其中，在 100 psig 的压力下将氧化剂加到混合物中。

5. 按权利要求 1 所述的方法，其中混合物含 16 g 水/g 干生物物质。

6. 按权利要求 1 所述的方法，其中混合物含 30g 氢氧化钙/100g 干生物物质。

7. 按权利要求 1 所述的方法，其中含木素纤维素的生物物质选自草、木、蔗渣、稻麦杆、纸、植物物质及其合并的一组。

8. 按权利要求 1 所述的方法，其中混合物是保温于 40 °C 至 150 °C 之间。

9. 按权利要求 1 所述的方法，其中混合物保温于 100 °C 至 140 °C 之间。

10. 按权利要求 1 所述的方法, 其中混合物是保温于 120 °C 温度下。

11. 按权利要求 1 所述的方法, 其中时间为 1 至 36 小时之间。

12. 按权利要求 1 所述的方法, 其中时间为 3 小时。

13. 按权利要求 1 所述的方法, 其中混合物保温于 120 °C 温度下 3 小时, 氧化剂压力为 100 psig。

14. 将含木素纤维素的生物物质转变为有用产品的方法, 其特征在于包括:

a) 形成混合物, 包括生物物质、 2-30g 氧化钙或氢氧化钙/100g 干生物物质、 6-19g 水/100g 干生物物质, 及氧化剂;

b) 在室温以上、 150 °C 以下的温度下将混合物保温 1-36 小时来预处理生物物质以氧化木素而不降解木素纤维素, 使经预处理的生物物质含有易于水解的葡萄糖量, 该量大于预处理前生物物质中所含葡萄糖总量的 77 %; 和;

c) 消化经预处理的混合物的生物物质, 使生物物质转变为有用产物。

15. 按权利要求 14 所述的方法, 其中, 用酸水解、 酶促作用、 发酵或兼用几种方法来消化生物物质。

16. 用权利要求 14 的方法制成的有用产物。

17. 按权利要求 16 所述的有用产物, 它包括化学原料。

18. 按权利要求 16 所述的有用产物, 它包括燃料。

19. 按权利要求 16 所述的有用产物, 它包括醇、 有机酸、 糖、 酮、 脂肪酸或其兼具以上产物。

20. 从生物物质预处理过程中回收钙的方法, 其特征在于包括:

a) 形成混合物, 包括生物物质、 2-30g 氧化钙或氢氧化钙/100g 干生物物质、 6-19g 水/100g 干生物物质, 及氧化剂;

b)在室温以上、150℃以下的温度下将混合物保温1-36小时来预处理生物物质以氧化木素而不降解木素纤维素，使经预处理的生物物质含有易于水解的葡萄糖量，该量大于预处理前生物物质中所含葡萄糖总量的77%；

c)将预处理的混合物或其液体部分碳酸化以沉淀碳酸钙；和

d)回收沉淀的碳酸钙。

21. 按权利要求20所述的方法，其中碳酸化混合物的pH在8.5至10.5之间。

22. 按权利要求20所述的方法，其中碳酸化混合物的pH在9.0和10之间。

23. 按权利要求20所述的方法，还包括加热碳酸化混合物以生成二氧化碳和氧化钙，并回收氧化钙。

24. 按权利要求20所述的方法，其中沉淀的碳酸钙通过过滤、水力旋流器分离、沉降法、离心法或兼用这些方法加以回收。

25. 从生物物质预处理过程中回收钙的方法，其特征在于包括：

a)形成混合物，包括生物物质、2-30g氧化钙或氢氧化钙/100g干生物物质、6-19g水/100g干生物物质；在加压下向混合物中加入选自氧和含氧气体的一组中的氧化剂；将混合物在室温以上、150℃以下的温度下保温1-36小时使混合物的生物物质经受消化作用；

b)加碳酸化剂到经预处理的混合物中以生成碳酸钙；

c)消化碳酸化的混合物；

d)将经消化的混合物分离成有用产物和残留混合物；

e)加热残留的混合物，使碳酸钙转变为氢氧化钙；

f)以氢氧化钙的形式回收钙。

26. 按权利要求25所述的方法，其中碳酸化剂为二氧化碳气体。

27. 按权利要求25所述的方法，其中由燃烧经消化的生物物质的

木素而提供热量。

28. 预处理含木素纤维素的生物物质使其能经受消化作用的方法, 特征在于包括:

a) 形成混合物, 包括生物物质、 2-30g 氧化钙或氢氧化钙/100g 干生物物质、 6-19g 水/100g 干生物物质, 及氧化剂;

b) 在室温以上、 150 °C 以下的温度下将混合物保温 1-36 小时来预处理生物物质而不降解木素纤维素, 使经预处理的生物物质含有易于水解的葡萄糖量, 该量大于预处理前生物物质中所含葡萄糖总量的 77 %。

29. 按权利要求 28 所述的方法, 其中混合物含约 9 — 11g 水/g 干生物物质。

30. 按权利要求 28 所述的方法, 其中混合物含 10 — 15g 氢氧化钙/100g 干生物物质。

31. 按权利要求 28 所述的方法, 其中含木素纤维素的生物物质选自草、木、蔗渣、稻麦秆、纸、植物物质及其结合的一组。

32. 按权利要求 28 所述的方法, 其中混合物保温于 40 °C 和 150 °C 之间。

33. 按权利要求 28 所述的方法, 其中混合物保温于 40 °C 至 70 °C 之间。

34. 按权利要求 28 所述的方法, 其中混合物是保温于 70 °C 和 110 °C 之间。

35. 按权利要求 28 所述的方法, 其中混合物保温于 110 °C 和 150 °C 之间。

36. 按权利要求 28 所述的方法, 其中时间在 1 和 36 小时之间。

37. 按权利要求 28 所述的方法, 其中时间在 15 和 25 小时之间。

38. 按权利要求 28 所述的方法, 其中时间在 1 和 2 小时之间。

39. 按权利要求 28 所述的方法, 其中混合物保温于 40 °C 和 150 °C 之间, 时间为 1 和 36 小时之间。

40. 将含木素纤维素的生物物质转变为有用产物的方法, 其特征在于包括:

a) 形成混合物, 包括生物物质、 2-30g 氧化钙或氢氧化钙/100g 干生物物质、 6-19g 水/100g 干生物物质, 及氧化剂;

b) 在室温以上、 150 °C 以下的温度下将混合物保温 1-36 小时来预处理生物物质而不降解木素纤维素, 使经预处理的生物物质含有易于水解的葡萄糖量, 该量大于预处理前生物物质中所含葡萄糖总量的 77 %;

c) 消化混合物的生物物质, 将生物物质转变为有用的产物。

41. 按权利要求 40 所述的方法, 其中采用酸水解、酶促作用、发酵或其结合消化生物物质。

42. 用权利要求 40 的方法所制的有用产物。

43. 按权利要求 42 所述的有用产物, 它包括化学原料。

44. 按权利要求 42 所述的有用产物, 它包括燃料。

45. 按权利要求 42 所述的有用产物, 它包括醇、有机酸、糖、酮、脂肪酸或兼具以上产物。

46. 从生物物质预处理过程中回收钙的方法, 其特征在于包括:

a) 形成混合物, 包括生物物质、 2-30g 氧化钙或氢氧化钙/100g 干生物物质、 6-19g 水/100g 干生物物质, 及氧化剂; 在室温以上、 150° 以下的温度下, 将混合物保温 1-36 小时使混合物的生物物质经受消化作用;

b) 将经预处理的混合物或其液体部分碳酸化以沉淀碳酸钙;

c) 回收沉淀的碳酸钙。

47. 按权利要求 46 所述的方法, 其中碳酸化混合物的 pH 在 8.5

和 10.5 之间。

48. 按权利要求 46 所述的方法, 其中碳酸化混合物的 pH 在 9.0 和 10 之间。

49. 按权利要求 46 所述的方法, 还包括加热碳酸化混合物以生成二氧化碳和氧化钙, 并回收氧化钙。

50. 按权利要求 46 所述的方法, 其中沉淀的碳酸钙可通过过滤、水力旋流器分离、沉降法、离心法或兼用这些方法加以回收。

51. 从生物物质预处理过程中回收钙的方法, 其特征在于包括:

a) 形成混合物, 包括生物物质、2-30g 氧化钙或氢氧化钙/100g 干生物物质、6-19g 水/100g 干生物物质, 及氧化剂; 在室温以上、150℃以下的温度下将混合物保温 1-36 小时使混合物的生物物质经受消化作用;

b) 加碳酸化剂到经预处理的混合物中以生成碳酸钙;

c) 消化碳酸化的混合物;

d) 将经消化混合物分离成有用产物和残留混合物;

e) 加热残留的混合物, 使碳酸钙转变为氢氧化钙;

f) 以氢氧化钙的形式回收钙。

52. 按权利要求 51 所述的方法, 其中碳酸化剂为二氧化碳气体。

53. 按权利要求 51 所述的方法, 其中由燃烧经消化的生物物质的木素而提供热量。

# 说明书

---

## 生物物质预处理的方法

### 发明的领域

本发明涉及含木素的生物物质的处理方法以使生物物质易于经受消化作用。预处理包括加氢氧化钙和水到生物物质中，使形成混合物，将混合物保持在相当高的温度下。或者可在加压下将选自氧和含氧气体组成的一组的氧化剂加到混合物中。本发明还涉及预处理生物物质的消化产物，包括有用的原料、燃料和化学物质如糖类、酮类、脂肪酸类和醇类，以及涉及从预处理过的生物物质中回收钙。

### 背景描述

生物物质可分为三大类：含糖、淀粉和纤维素的植物。含糖植物（如甜高粱、甘蔗）和含淀粉植物（如玉米、稻、麦、甘薯）主要用作食物来源。含纤维素植物和废弃物质（如草、木、蔗渣、稻草）是生物物质最丰富的形式。虽然它们不易转变为有用产物，但将它们转为原料的精密设计的方法可能是潜在的经济方法，因为原料的费用比含糖和含淀粉生物物质要少得多。

含纤维素的物质一般指木素纤维素，因为它们含纤维素（40%—60%）、半纤维素（20%—40%）和木素（10%—25%）。非木质的生物物质一般含少于约15—20%木素。纤维素，一种葡萄糖多聚物，可用酸、酶或微生物水解为葡萄糖。葡萄糖可作为燃料酒精和单细胞蛋白质产品的原料。微生物水解产生细胞生物物质（单细胞蛋白质）和代谢废品如有机酸。酸水解虽然简单，但产生很多不合需要的降解产物。酶水解是最干净、最可取的方法。但是，酶（主要是纤维素酶和纤维二糖酶）的制备可以是昂贵的步骤。除了酒精生产



之外，木素纤维素可用作廉价的牛饲料。因为粗木素纤维素不易被牛消化，故必须将其加工以改善其消化率，然后才能喂饲反刍动物。用瘤胃微生物进行厌氧发酵可产生低分子量挥发性脂肪酸。

纤维素是世界上最丰富的生物物质。木种类中的约40%—45%干重是纤维素。聚合度从500—20,000。纤维素分子完全是直链的，无支链，有形成分子内部和分子间氢键的强烈倾向。因而纤维素分子束聚集在一起，形成微纤维，其中高度有序（结晶）区与低度有序（无定形）区交替。微纤维组成纤维，最后组成纤维素纤维。由于其纤维结构和强的氢键，纤维素有很高的抗张强度，在大多数溶剂中不溶解。

半纤维素是世界上第二大丰富的碳水化合物，包括约20%—30%木干重。半纤维素虽然通常被认为是纤维素生物合成中的中间体，但它们通过不同于纤维素的生物合成途径而生成。半纤维素是杂多糖，由多种多样的单体形成。最常见的单体是葡萄糖、半乳糖和甘露糖（己糖类）及木糖和阿拉伯糖（戊糖类）。多数半纤维素聚合度仅为200。半纤维素可分为三类：木聚糖类、甘露聚糖类和半乳聚糖类，被指定作主聚合物。

木素是世界上最丰富的非碳水化合物生物物质。它是极高分子量的三维大分子。由于它的单元广泛地交联，因此难于限定单一分子。木素因和纤维素纤维结合在一起而提供强度。由于它本质上是疏水性，它阻止水分从导管系统丢失，由于高度抗酶降解，它防护植物不受昆虫和微生物的侵袭。

芳香族化合物苯丙烷是木素的基本结构单元。单体不单能互相交联，而且共价结合于半纤维素。由于木素的存在，对纤维素和半纤维素的易受影响性造成强大约束因素。已证明木素含量降低可使消化率增高。通过物理、化学或酶学处理可除去木素。有几种很好开发的捣浆方法使分解成小的单元而除去木素，留下很完整的纤维

素。常规的捣成纸浆方法，如 kraft 和亚硫酸盐捣浆法，作为生物转化预处理代价太高。经济地除去木素也困难，因为它的化学结构和大小分布太不均匀。

对纤维素酶水解的另一主要制约因素是其结晶区的高度有序分子的堆积。纤维素水解酶容易降解纤维的较易受影响的无定形部分，但不能侵袭较少受影响的结晶物质。因此，随着用 X-射线衍射法测得的结晶度指数的降低，可使酶水解率增高。

纤维素纤维的水分含量影响酶促降解。假如水分含量维持在所涉及的物质和有机体的临界水平特征之下，纤维素物质能被有效地保护不因酶或微生物作用而变质。通常，临界水平是略高于纤维饱和点，约为干重的 40%。水分起三个主要作用：(1) 通过纤维素分子的水合作用使纤维肿胀，从而打开精细结构，而增加酶的接近机会；(2) 为酶和部分降解产物提供扩散介质；(3) 当每个分子的配糖键被水解而分裂时加到纤维素上。

木素纤维素的表面积是确定对酶促降解敏感性的另一重要因素。这是因为在酶分子和纤维素表面之间的接触是进行水解的先决条件。还影响敏感性的一些其他因素包括与毛细管的大小和表面性质有关的酶分子的大小和它的扩散性，纤维素分子的单位细胞的尺寸以及水-葡萄糖单元的立体刚性。

为增强对酶水解的敏感性，木素纤维素的预处理是基本的要求。木素纤维素的非均质酶降解主要由其结构特征所控制，因为(1)纤维素具有高抗力的结晶结构，(2)纤维素周围的木素形成物理屏障，(3)酶攻击的有效部位是有限的。因此，理想的预处理应减少木素含量，同时结晶度相应的降低，以及表面积的增加。根据作用方式，预处理方法可分为物理、化学、物化和生物学方法。关于这个主题可利用的文献很多。现将已用于增加纤维素消化率的各种预处理方法总结于表 1。

表1 用于木素纤维素预处理的方法

<u>物理方法</u>	<u>化学方法</u>	<u>物化方法</u>	<u>生物学方法</u>
球磨	<u>碱</u>	蒸汽爆炸	真菌
二辊磨	氢氧化钠	氨纤维爆炸	
锤磨	氢氧化钙		
胶态磨	氨		
高压蒸煮	<u>酸</u>		
高能幅射	硫酸		
热分解	盐酸		
	氢氟酸		
	<u>气体</u>		
	二氧化氯		
	二氧化氮		
	<u>氧化剂</u>		
	过氧化氢		
	臭氧		
	<u>纤维素溶剂</u>		
	<u>溶剂提取</u>		
	乙醇—水提取		
	苯—乙醇提取		

### 生物学预处理

生物学预处理系采用真菌的微生物脱木素作用，使纤维素更易受影响。主要的生物学术素降解剂是子囊菌纲和担子菌纲的高级真菌。真菌降解是一个缓慢的过程，大多数真菌不只能攻击木素，还攻击纤维素，从而产生木素片段和糖的混合物。进行改进可能需要开发更具特导性和有效的微生物。

### 物理学预处理。

物理学预处理可分为两大类：机械的（包括各类研磨）和非机械的（包括高压蒸煮、高能照射和热分解）。在机械预处理时，物理力（如剪力、压力）将木素纤维素细分为细颗粒。这些物理力减少结

晶度，降低颗粒大小和聚合度，增加容积密度。这些结构改变导致材料对酸和酶水解更敏感。但是，由于极高的操作费用，伴有高能量需求、低产量和需时长，这些机械预处理是不现实的。非机械物理预处理方法也增加消化率，但有类似的不利之处，因而对于实际操作过程是不经济的。

### 物化学预处理

蒸汽爆炸和氨气纤维爆炸法 (AFEX) 是最主要的物理化学预处理。蒸汽爆炸法是将湿的木素纤维素加热到高温 (约 25°C)，立即减少压力。由于迅速减压使纤维中所捕集的水份放出，实际尺寸出现减小。高温从半纤维素中除去乙酸，此过程导致生物物质的某种程度的自动水解。这些变化产生较好的消化率，但剧烈的条件也产生降解产物，这抑制了水解和发酵。用水洗涤除去这些产物，这导致水溶性半纤维素的丢失。因此，虽然消化率改善了，但生物物质降解和蛋白质变性限制了蒸汽爆炸的使用。

AFEX 处理是在高压下将木素纤维素浸在液态氨中，然后爆炸性地减去压力。预处理条件 (30°C—100°C) 没有蒸汽爆炸剧烈。可接近的表面积的增加连同纤维素结晶度的减低 (由氨接触引起) 导致酶促消化率的提高。但是，氨的使用 (一种有害化学品) 和高压释放使该方法相当复杂和能量的集中耗损。

### 化学预处理

很多化学处理已被用于去除木素和破坏木素结晶结构。在这些化学品中，酸、气体、氧化剂、纤维素溶剂和溶剂提取剂都有可能增加消化率，但不如碱类普遍。经济、处理较简单和降解较少使碱类宜于作化学预处理试剂。但是，这些方法中大多数是制纸浆方法，涉及木素的完全或几乎完全破坏和纤维素的相应破坏。虽然在制浆中不重要，但这些制浆方法很激烈，作为生物物质的预处理是不实用的。此外，作为木素纤维素预处理方法，采用造纸工业所用的传统

制浆方法是太昂贵。

授予 Chou 的美国专利 No. 4,644,060 使用超临界氨以增加木素纤维素消化率。

授予 Cheng 的美国专利 No. 4,353,713 和 No. 4,448,588 涉及生物物质或煤的气化，这是一个吸热过程。这些专利还涉及通过石灰和二氧化碳反应（这是一个放热反应）以补入所需热能的方法。

授予 Azarniouch 的美国专利 No. 4,391,671 是在旋转窑中煅烧碳酸钙的方法。该文献涉及造纸/制纸工业，其中碳酸钙被废生物物质沾污。废生物物质被烧掉以提供所需的反应热。

授予 Hulquist 的美国专利 No. 4,356,196 用氨处理生物物质。

授予 Kerr 的美国专利 No. 4,227,964 使用氨促使制浆纤维纠缠以增加纸的强度，而不使纤维断裂。

授予 Roberts 的美国专利 No. 4,087,317 采用石灰和机械打击将纸浆转变为水合凝胶。该文献未提及石灰回收或水合凝胶的酶促水解。

授予 Conradsen 的美国专利 No. 4,064,276 涉及的方法是用油布复盖生物物质，然后充氨进行氨化，使氨扩散到大气中。

授予 Jelks 的美国专利 No. 3,939,286 是在酸催化剂和金属催化剂氯化铁的存在下，在高温高压下，用高压氧气氧化生物物质，以裂解木素键，增加消化率。据描述，催化剂是该方法必需的，氢氧化钙系用作中和剂以调整水解生物物质所得到的 pH。

授予 Moore 的美国专利 No. 3,878,304 涉及反刍动物饲料中缓慢释放非蛋白氮的制备。在酸催化剂存在下，将酰胺（尿素）与废碳水化合物进行反应。得到的物质制颗粒。用作动物饲料。因为氮在瘤胃中缓慢释放，它对动物是无毒的。

授予 Samuelson 等的美国专利 No. 3,944,463 涉及制备高透明度的纤维素浆的方法。在约 60℃ 至约 200℃ 的温度下，用碱化合

物预处理纤维素，以致在预处理液中溶解1—30%干重物质。预处理液较可取地含碳酸钠、碳酸氢钠或其混合物，或可能含氢氧化钠。

授予 Spruill 的美国专利 No. 3,639,206 涉及用氧化钙或氢氧化钙处理制浆过程中的废水流出物，以减少流出物和纤维的色素含量。

授予 Lagerstrom 等的美国专利 No. 4,048,341 涉及将木素纤维素物料与碱液（具体地有氢氧化钠）接触而增加物料的饲料价值。在达到任何必要的碱化效应前，使过量碱液从物料流出。在物料中吸收的液体发挥作用后，将酸溶液加到物料中以中和过剩的碱。该文献未揭示温度和碱处理时间的相互关系，也未揭示氢氧化钠和水的最适量。

授予 Lagerstrom 等的美国专利 No. 4,182,780 涉及在密闭系统中，在处理试剂循环下，通过碱处理和接着以酸中和物料增加木素纤维素物料的饲料价值的方法。

授予 Anthony 的美国专利 No. 4,515,816 涉及用约为木素纤维素干重的1.5—2.5%量的稀酸处理木素纤维素的方法。然后将混合物在隔绝空气的环境下贮存于常温常压下5—21天。

授予 Tyson 的美国专利 No. 4,842,877 涉及非木质生物物质（<20%木素）的去木素方法。在此方法中，将非木质生物物质用螯合剂处理以防止不必要的氧化，并在过氧化氢和加压氧存在下维持于高 pH 和高温度下（65.5°C—157.2°C），150°F—315°F）。据述，过氧化氢在细胞壁上引起反应，使半纤维素和木素溶解，并通过随后的水解过程而被去除。加入氧气以引起和加速过氧化氢的激活。

用氨（气体、无水的液体、或  $\text{NH}_4\text{OH}$ ）和氢氧化钠作预处理剂的文献中所报告的研究条件和结果分别列于表2和表3。用这两种化学品来增加反刍动物饲料的木素纤维素消化率及水解成葡萄糖方面，可利用的文献是广泛的。关于氢氧化钙预处理方法的文献比氢

氧化钠和氨预处理的文献少。在用氢氧化钙的文献中报告的研究条件和结果见表 4。

表 2 报导的氨化条件

文献	生物物质的类型	氨的状态	温度 (°C)	时间	压力	颗粒大小	g NH <sub>3</sub> /kg 干生物物质	对消化率的效应
Villareal, 1988	海岸白慕大草	气态	室温	—	大气压	—	40	DIT, CP 增加 <sup>1</sup>
Waiss et al., 1972	稻草	NH <sub>3</sub> OH	160	1h	—	0.64 cm	26/52	增加 <sup>1</sup>
Waiss et al., 1972	稻草	NH <sub>3</sub> OH	室温	30 d	大气压	0.64 cm	50	增加 <sup>1</sup>
Millet et al., 1970	白杨木屑	液态	30/60/90	1 h	155/360/725 psi	—	—	增加 51% <sup>1</sup>
Millet et al., 1970	白杨木屑	气态	30	1/2—74 h	155 psi	—	—	增加 47% <sup>1</sup>
Brown et al., 1987	稀树草原草	气态	室温	30 d	大气压	2.5 cm	20/30/40	增加 <sup>1</sup>
Kellens et al., 1983	麦草	NH <sub>3</sub> OH	29	21 d	大气压	2 mm	50	增加 13%—33% <sup>2</sup>
Kellens et al., 1983	麦草	气态	6	44 d	大气压	2.5 cm	50	增加 <sup>1</sup>
Hultquist, 1982	苜 蓿	液/气	20—30	30 m	70—165 psig	1/16—1/2 in	5/20	增加 50% <sup>1</sup>
Millet et al., 1975	白杨木屑	气 态	—	2h	70 psi	—	—	增加 46% <sup>1</sup>
Morris et al., 1980	玉米禾茎	—	室 温	—	大气压	13 cm	30	DIT, DE 增加 <sup>1</sup>

1. 体内试验

2. 体外试验



表 3 报导的 NaOH 处理条件

文献	生物物质的类型	温度 (°C)	时间	颗粒大小	g NaOH/100 g 溶液	g NaOH/100 g 生物物质	对消化率的效应
Moore et al., 1972	棉籽绒	30	1 h	40 目	1	20	无作用 <sup>2</sup>
Moore et al., 1972	白杨	30	1 h	40 目	1	20	增加 10%—50% <sup>2</sup>
Millet et al., 1970	不同的木材样品	25	1 h	—	1	20	增加 <sup>2</sup>
Fient et al., 1970	不同的木材样品	25	1 h, 2 h	40 目	0.5, 1	2—20	增加 <sup>2</sup>
Baker et al., 1973	白杨木屑	室温	2 h	0.16 cm	0.5	5	增加 41%—52% <sup>1</sup>
Anderson et al., 1973	黑麦草	室温	24h	2.54 cm	0.5—8	7.5—120	1 增加 33% <sup>1</sup> —90% <sup>2</sup>
Mandels et al., 1974	蔗渣	72	1 h	1/8" 目	2	—	增加 <sup>2</sup>
Mandels et al., 1974	报纸	70	90 m	1/8" 目	2	100	增加 <sup>2</sup>
Turnet et al., 1990	不同的草样品	—	43 m	4 mm	3	—	增加 <sup>2</sup>

所用的记号: 1. 体内试验, 2. 体外试验

表 4 报导的 Ca(OH)<sub>2</sub> 处理条件

文献	生物物质的类型	温度 (°C)	时间	颗粒大小	g NaOH/100 g 溶液	g NaOH/100 g 生物物质	对消化率的效应
Playne, 1984 1972	蔗 渣	20	8 d	2.25	0.87	12—30	增加 19%—72% <sup>2</sup>
Waller et al., 1975	玉米棒子	室 温	14 d	磨碎的	0.6	4	消化率改善 <sup>1</sup>
Rounds et al., 1974	玉米棒子	—	—	—	—	4	无作用 <sup>2</sup>
Gharib et al., 1975	杨木皮	室 温	1 或 150 d	9.5 mm	0.6	4—16	增加 30%—52% <sup>2</sup>
Felix et al., 1990	大豆杆	室温/冷冻	30 d	切碎的	0.65	2—5	无作用 <sup>1</sup>

所用的记号: 1. 体内试验,

2. 体外试验

表中和下面所引的文献：

- Anderson, D. C. ; Ralston, A. T. J. Anim. Sci. 1973;37,148.
- Baker, A. J. ; Millett, M. A. ; Satter, L. D. ACS Symposium Series 1975;10,75.
- Brown, W. F. ; Phillips, J. D. ; Jones, D. B. J. Anim. Sci. 1987; 64,1205.
- Dawish, A. ; Galal, A. G. In Proc. Conf. Anim. Feeds Trop. Subtrop. Origin  
1975.
- Felix, A. ; Hill, R. A. ; Diarra, B. Anim. Prod. 1990; 51,47.
- Feist, W. C. ; Baker, A. J. ; Tarkow, H. J. Anim. Sci. 1970;30,832.
- Gharib, F. H. ; Meiske, J. C. ; Goodrich, R. D. ; El Serafy, A. M. J. Anim. Sci.  
1975;40 (4),734.
- Hulquist, J. H. U. S. Patent No. 4,356,296;1982.
- Kellens, R. D. ; Herrera-Saldana, R. ; Church, D. C. J. Anim. Sci. 1983; 56(4),  
938.
- Mandels, M. ; Hontz, J. R. ; Kystrom, J. Biotech. Bioeng. 1974;16,1471.
- Millet, M. A. et al. , J. Anim. Sci. 1970;31 (4),781.
- Millet, M. A. ; Baker, A. J. ; Satter, L. D. In Biotech. Bioeng. Symp. 1975; 5,  
193.
- Moore, W. E. ; Effland, M. J. ; Medeiros, J. E. J. Agr. Food Chem. 1972;20(6),  
1173.
- Morris, P. J. ; Movat, D. N. Can J. Anim. Sci. 1980; 60,327.
- Playne, M. J. Biotech. Bioeng. , 1984; 26,426.
- Rounds, W. ; Klopfenstein, T. J. Anim. Sci. 1974;39,251 (abst).
- Turner, N. D. ; Schelling, G. T. ; Greene, L. W. ; Byers, P. M. J. Prod. Agric.  
1990; 3(1),83.
- Villareal, E. R. Ph. D. Thesis Texas A & M Univ. College Station, TX 1988.
- Waiss, A. C. et al. , J. Anim. Sci. 1972;35(1), 109.
- Waller, J. C. ; Klopfenstein, T. J. Anim. Sci. 1975,41 424 (abstract).

Playne (1984) 研究了碱处理和蒸汽爆炸对蔗渣消化率的效应。未处理的蔗渣的消化率是 190g 有机物质 (OM)/kg 蔗渣干物质。处理后提高为：733g 有机物质 (用 NaOH, 用含  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  的  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  也是如此); 430g OM (用  $\text{NH}_3$ ); 724g OM (用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ )。单用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  时, 用高负荷 (约 180—300g  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ /kg 蔗渣)。Guarb 等 (1975) 应用氧化钙作化学处理白杨树皮的体外评价。他们报告, 氢氧化铝处理 150 天, 使体外试验中实际消化率从 38% 增至 52%, 尽管处理 1 天几乎未见改善。Rounds 和 Klopfenstein (1974) 通过用玉米棒喂饲羔羊, 研究 NaOH、KOH、 $\text{NH}_4\text{OH}$  和  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  对玉米棒子体内消化率的影响, 及用人工瘤胃研究对体外消化率的影响。尽管用  $\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{NaOH}$  定量处理导致羔羊的每日增重和进料效率较高, 单用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  不能增加体外消化率。Waller 和 Riopfenstein (1975) 用 NaOH、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$  和  $\text{NH}_4\text{OH}$  的各种配合处理羔羊和小母牛的饲料, 他们报告, 3% NaOH + 1%  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  定量得到最高的每日增重和最低的进料/增重。Darwish 和 Galal (1975) 在牛奶生产配给量试验中, 采用 1.5%  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  处理的玉米棒子, 未发现牛奶产量的明显变化。Folix 等 (1990) 评估了青贮和用 NaOH、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$  处理大豆杆对反刍动物消化率的影响。结果表明, 虽然碱处理改善青贮豆杆的消化率, 但对于干的和非青贮豆杆的碱处理并无明显改善。

虽然已证明氢氧化钙用作预处理剂, 但将此化学物质与其他碱类相比较而使用则极少有人做过。动物科学家们以前进行的大部分工作是开发一种非常简单的提高动物饲料木素纤维素消化率的方法。所有这些研究均在室温或室温以下, 在低水负荷状态进行很长时间, 不作任何混合。这些方法需要很长的处理时间, 这是很化钱的, 因为反应器必须很大。因此有必要改进现有的含木素纤维素物料的预处理方法, 使其能经受酶促消化。

## 发明简述

本发明的一个实施方案是预处理含木素纤维素生物物质使其易于经受消化作用的经济的方法。预处理包括加氢氧化钙和水到生物物质中，使生物物质经受相当高温处理一段时间。经预处理的生物物质被消化，产生有用的产物。

本发明的另一个实施方案是经济的预处理方法，包括加氢氧化钙和水到生物物质中形成混合物，在加压下将选自氧和含氧气体组成的一组中的氧化剂加到混合物中，及使生物物质经受相当高温处理一段时间。经预处理的生物物质被消化，产生有用的产物。

本发明的再一个实施方案是从生物物质回收钙的方法，经预处理后，用碳酸化试剂使生物物质充碳酸气以生成碳酸钙。从预处理后的混合物中或在消化后回收碳酸钙，并可将其重新转变为氢氧化钙。

## 附图的简要说明

图 1 是反应器系统 3 的示意图。

图 2 是用于滤纸检测的葡萄糖校正曲线。

图 3 是用于滤纸检测的酶校正曲线。

图 4 是用于 DNS 检测的校正曲线。

图 5 是氢氧化钙连续回收的流程图。

图 6 是用水力旋流器从石灰溶液中分离石灰固体的一个实施方案的示意图。

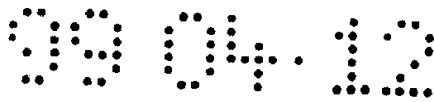
图 7 是用水力旋流器从石灰溶液中分离石灰固体的另一实施方案的示意图。

图 8 是显示用石灰预处理生物物质可能的不同排列的示意图。

图 9 显示用于反刍动物饲料生产的石灰处理过程。

图 10 是显示氧对报纸水解的影响的氧压力——产量曲线图。

图 11 是显示处理时间对报纸水解的影响的预处理时间——产



量曲线图。

### 发明的详述

本发明包括生物物质预处理的经济方法。预处理包括将氢氧化钙和水加到生物物质中使生物物质对降解敏感。氢氧化钙是廉价的，且比其他碱类便宜得多。不象钠残渣，它们处理是安全的，钙残渣少，用作动物饲料没问题。在人工瘤胃中，氢氧化钙生成乙酸钙，这也是安全、无毒的。因此，氢氧化钙( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ )作木素纤维素预处理剂是非常经济的。而且，在动物上  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  预处理物料和  $\text{NH}_3$  或  $\text{NaOH}$  预处理物料之间消化率也无明显差异。

本发明预处理方法的操作条件比现有文献明显改进。以往的研究者为了建立不用加热器的简单方法而将其操作温度限在室温或室温以下。这些简单方法需要极长的处理时间，典型地为 8 — 150 天。提高处理温度可减少处理时间，但是要冒木素纤维素降解的风险。我们已确定不使木素纤维素降解而使处理时间呈数量级的缩短的高温处理条件。经济效果是明显的，因为反应器可按数量级地缩小。

此外，以前的氢氧化钙 (石灰)预处理方法的水负荷很低。因为他们的方法在室温下操作，结果没有好的热传递。他们可用极少的水进行操作，因为空气的隔热性并非有害。但是，当在较高温度下操作时，含约 10 倍以上水对该方法有益，因为水的高热容和传热系数保证了温度一致。较高的水负荷也提供了石灰能更均匀分散于其中的介质，但用常规步骤是做不到的。因而，以前石灰处理的研究大多用相当低的石灰量，而我们能实际上考虑用较高的量，因为石灰回收方法也被收入本发明中。

在另一实施方案中，本发明涉及预处理含木素纤维素生物物质以使生物物质能经受消化的方法，包括提供含木素纤维素的生物物质，加氢氧化钙和水到生物物质中以形成混合物，将混合物在升高的温度下保持一段时间，这段时间足以使混合物中的生物物质经受

消化作用。有用的生物物质的种类包括草、木、蔗渣、稻麦杆、纸、植物物料及其组合。本发明方法所涉及的含木素纤维素的生物物质较佳的为含大于约 15% 木素的生物物质，更佳地为含大于约 20% 木素的生物物质。

较满意的是将准备预处理的生物物质加料到削片机、研磨机、切碎机、撕碎机或类似机器中，使尺寸变小。所得到的生物物质碎片或颗粒为约  $1\frac{1}{2}$  吋或更小为宜。然后将生物物质颗粒与氢氧化钙和水合并以形成生物物质碱性混合物。该混合物含约 6—19g 水/g 干生物物质，较佳地为约 16g 水/g 生物物质。混合物还含约 2—50g 氢氧化钙/100g 干生物物质，较佳地为含约 30g 氢氧化钙/100g 干生物物质。根据生物物质的类型，较佳量可更大或更小。氢氧化钙可在加水或为水溶液或分散剂之前或之后加入。

氢氧化钙/生物物质水性混合物在反应室（以不锈钢为佳）中保温于约 40°C 至约 150°C，以约 100°C 至约 140°C 为佳，以约 120°C 为更佳。根据生物物质类型，温度范围可在约 70°C 至约 110°C 之间，在约 110°C 至约 150°C 之间，或在约 50°C 至约 65°C 之间。保温时间约在 1 至约 36 小时之间，以约 1 至约 20 小时为佳，以约 3 小时为更佳。根据生物物质类型，时间也可较长或较短，如在约 15 至约 25 小时之间。

本发明的另一实施方案是将含木素纤维素的生物物质转变为有用产物的方法，包括提供含木素纤维素的生物物质，加氢氧化钙和水到生物物质中以形成混合物，用加压氧氧化混合物，将混合物保温于升高的温度下一段时间以进行氧化，该段时间足以使混合物的生物物质经受消化作用，并消化混合物的生物物质使它转变为有用产物。氧相当便宜，易于以加压氧气、加压空气和其他加压含氧气体的形式加以利用。氧还是无毒的，不污染环境。如上所述，将氢氧化

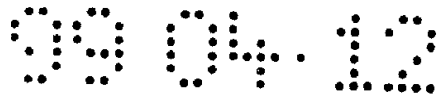
钙加到生物物质中以形成混合物。在加压下，向混合物中加入选自氧和富氧气体的一组中的氧化剂。加入的含氧气体压力以约 20—500 psig (磅/吋(表压))为宜，大于约 50 psig 为较佳，大于约 100 psig 为更佳。

在上述每个实施方案后，均通过水解，如酸水解、酶作用、发酵或这些消化方法的合并使用，将预处理的生物物质进行消化。消化的生物物质包括有用的产品，如醇类、酸类如有机酸、糖类、酮类、淀粉类、脂肪酸类或兼具这些物质。这些产品可制成原料，如化学原料、燃料和其他有用的产品。由于预处理条件相对地较温和，得到这些有用产品的量比其他预处理方法后得到的高，质也较好。物料的最大量被转变为有用产品，而废物尽可能少。而且，无有毒或有善化学品被引入生物物质中，因此列须从终产物中去除，甚至对最后产品无须作检验。

本发明的另一实施方案是从生物物质预处理过程中回收钙的方法，包括用氢氧化钙和水预处理生物物质以形成混合物，在加压下向混合物中加入选自氧和含氧气体组成的一组中的氧化剂，在升高的温度下将混合物保温一段时间，这段时间足以使混合物的生物物质经受消化作用，使混合物或其液体部分碳酸化以沉淀碳酸钙，以及回收沉淀的碳酸钙。碳酸钙的混合物的 pH 在约 8.5 和约 10.5 之间，以约 9.0 和约 10 之间为佳。混合物中碳酸钙被沉淀，可用过滤、水力旋流器分离，沉降、离心或这些方法的结合使用加以回收。碳酸钙也可被加热并转化为二氧化碳和氧化钙，钙以氧化钙的形式回收。

或者，用碳酸化剂处理预处理过的混合物，较好的是用二氧化碳气体通气泡到混合物中，生成碳酸钙。将预处理和碳酸化后的生物物质消化，从剩下的混合物(残留的混合物)中分离有用产品。将残留的混合物(含木素和碳酸钙)加热，例如在窑中，较佳地在石灰





窑中加热，将碳酸钙转化为氢氧化钙。供给窑的热量可以来自木素的燃烧，有利于整个过程的高度经济化。

下面提供的实施例用以阐述本发明的实施方案，它们不应视为对本发明范围的限制。

### 实施例

#### 实施例 1: 试样制备

收集到的原料渣 (甘蔗渣、甜菜渣)系来自的克萨斯州的 A & M 大学的动物科学 (部)系。由于它是敞开堆放三年仅用塑料片覆盖的，因此，首先将它用水彻底洗涤，然后炉中于 80 °C 干燥约 8 小时。同时，因为原料渣由于贮存期间而变质，该原料渣用于本研究要比霍尔兹派尔 (Holtzapfel)等采用的更有局限性 [参见:App. 国 Biochem. Biotech 28/29, 59 (1991)]。小麦杆草已经是干净的，无需洗涤。针叶树新闻纸为得克萨斯白罗恩/大学站的依格尔(Eagle)新闻纸。首先将它在纸破碎机中破碎。所有的材料在威利 (Wiley)磨机中研磨到 1 × 1 毫米颗粒尺寸，然后通过 40 目筛子。干重的分析是通过将小样在一炉中于 80 °C 24 小时，测量由于水蒸发而失去的重量完成。

#### 实施例 2: 氢氧化钙预处理

氢氧化钙预处理包括将生物物质在相对高的温度下在水的存在下与氢氧化钙反应。预处理工艺的效果可在几种不同反应条件下研究。研究的各种工艺中改变限定的负荷为 92 — 30 克 Ca(OH)<sub>2</sub>/100 克干原料渣),水负荷(6 — 19 克水/克干原料渣),处理温度(50 ° — 145 °C) 以处理时间为(1 — 36 小时)。采用以下三种类型的反应器系统。

反应器系统 1:用于初始预处理试验，采用一只 500 毫升的玻璃三角烧瓶作为反应器。将该烧瓶用橡皮塞塞住并放入 100 rpm 可振荡水浴中。该方法由于水可达到的最高温度被局限于 65 °C。

反应器系统 2: 将三角烧瓶放入炉子中, 采用周期性间歇手工振荡。通过本方法, 只是一次试验于 65°C 下进行。该方法结果得到较低的收率, 这标明为了得到有效的质量传递, 连续摇动是必须的。

反应器系统 3: 采用钢反应器作温度范围 65°和 145°C 的试验。为了抵抗氢氧化钙的腐蚀性, 该反应器用 304 不锈钢构成。该反应器为 1.5 内径, 5" 长在两端带有端帽的螺纹套管。为了保证反应器里的混合, 在得克萨斯 A & M 化学工程系的机械车间中装配了旋转滚筒装置。在图 1 中显示了该反应器系统的示意图。该装置夹住在炉 (O) 内的反应器 (R) 并且连续地滚动它们, 保证内容物的翻滚混合。通过二端的二个滚珠轴承 (B) 上支撑一根钢杆 (R<sub>1</sub>), 该轴承紧固在可放于炉内的钢架 (SF) 上。在钢杆上开 6 个孔通过钢杆以定位夹持反应器的夹子 (C)。反应期间在适当的位置用定位螺丝夹紧该夹子。通过炉的侧面开一个 1 英寸的孔。将一根由滚珠轴承 (固定在炉壁上) 的小杆 (R<sub>2</sub>) 通过该孔。皮带轮 (P) 安装在炉外的一端。装在炉顶的可变速度的直流/交流电动机 (M) 带动 R<sub>2</sub> 旋转。该钢杆夹住反应器 (R) 的钢杆并且有一转楔端 (通过轴插口 (S) 与转轮联轴的小的螺帽 (N))。这种连接使反应器易于从炉中放入和取出。

为了完成预处理试验, 该反应器至少由四层聚四氟乙烯 (Teflon) 带绕在二端制成。一端在一台钳中通过放置螺纹接头密封并通过管子板头拧紧该端帽, 通过在反应器中放入已测定重量的生物物质 (7.5 克干重) 和 Ca(OH)<sub>2</sub> (根据氧化钙的负荷) 制备反应混合物。反应器内的物料通过刮刀完成混合。然后在干燥的混合试样中加入已测定数量的水。将端帽放在管接头的另一端并加以拧紧。然后, 将反应器放在沸水中 5—15 分钟 (根据预处理温度) 预热。预热的反应器必需迅速将它们放入到较高的温度。然后, 将它们夹住并固定在滚动装置上并放在保持在所需的预处理温度的炉内。转动马达并保持所需的预处理时间。俟预处理时间一到, 将反应从炉中取

出，并放入一水浴中以快速冷却到环境温度。取出在反应器水解的试样。整个步骤的一步一步的操作过程由以下给出。

可选择地将反应器中含氧气体由连接系统的高压气体容器或槽导入到反应器中。该气体可以是纯的压缩氧、压缩空气（最为经济）或任何的在压力下的含氧气体。该含氧气体的压力可由装在气体供应容器或在反应器上的压力表测定。

### 实施例 3：氢氧化钙预处理——反应器系统 3

1. 除去旧的聚四氟乙烯带并清洁二端的螺纹。顺时针方向至少包四层新的聚四氟乙烯带。

2. 所有的反应器加贴标签并编号，每次可运转 2 或 4 或 6 个反应器。

3. 通过放一帽子密闭反应器一端。在一台钳中夹住螺纹接头并用管子板头拧紧帽子。

4. 称取磨细并筛过的物料 7.5 克（干重）用一漏斗加入至标过号的反应器中。

5. 称重氢氧化钙（按所需氧化钙的负荷）并加入到已有生物物质的反应器中。

6. 用一刮刀彻底混合  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  和生物物质。使其干混合基本保证均匀反应。

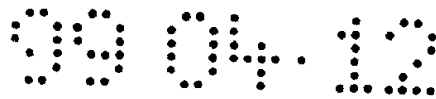
7. 按照所需的负荷加入水。

7A.（任意地）打开连接反应器在压力下的氧气容器的阀门。当反应器已达到具本的测量压力时关闭阀门。

8. 密闭所有反应器的两个端部。

9. 将反应器在沸水中于  $50^\circ\text{C}$  运转 5 分钟，于  $135^\circ\text{C}$  运转 15 分钟。沸水器烧开约需 30 分钟，所以必须预先进行。

10. 加热炉子到所需的预处理温度。将炉子加热一小时以达到稳定的温度。在炉子加热期间保持炉内装置滚动使其预热。



11. 夹住反应器, 使夹子夹在反应器的中央, 使反应期间不致中断.
12. 将装置放在滚动轴上的槽中并拧紧定位螺丝.
13. 将装置放入炉中并用偶联装置与马达连接.
14. 开动马达并保持最小可能的转动速度而保证该马达不致停车.
15. 观察炉子的温度.
16. 预处理时间一到, 取出反应器, 放入冷水浴中, 让它们冷却 10 分钟.
17. 进行酶水解

#### 实施例 4: 过滤纸分析

通常是用过滤纸分析作为定量研究纤维的水解和测定纤维活性. 采用过滤纸是因为它是易于购到并具有重现性的基质, 并且对纤维素酶既不太敏感也不太对抗. 将过滤纸用不同数量的纤维素酶于 50 °C 和 pH 4.8 培养 1 小时. 通过二硝基水杨酸(DNS)试剂测定在 1 小时中释放的还原糖量. (同时参见下面). 酶在 1 小时中产生 2 毫克还原糖 (以葡萄糖表示) 相当于 0.185 国际单位 (1 国际单位=1 mmole 葡萄糖/1 分)

用葡萄糖标定 DNS 试剂 (除滤纸以外):

1. 用 500 毫克/dl (5 mg/ml) 葡萄糖标准液按照表 5 在一对试管中制备 0.5 ml 试样.
2. 如 1.0 ml pH 4.8 的 0.05 M 柠檬酸盐缓冲液.
3. 加入 1 × 6 cm 滤纸条 (华脱曼 1#, 卷成卷), 旋转.
4. 于 50 °C 培养 1 小时 (用盖帽的试管), 避免振荡.
5. 每一试管加 0.3 ml DNS.
6. 在水浴中沸腾试样 15 分钟.
7. 加 10 ml 水并旋转.

8. 通过 0.45 $\mu$ m 尼龙膜过滤器过滤。

9. 于 550 nm 测定吸收, 并制作葡萄糖浓度的吸收校正曲线, 如图 2 中所示。

表 5 制备标定葡萄糖的标准溶液 (用过滤纸测定)

葡萄糖浓度 (mg/ml)	葡萄糖重量 (mg)	标准液 (ml)	蒸馏水 (ml)
1.0	0.5	0.10	.40
2.0	1.0	0.20	0.30
3.0	1.5	0.30	0.20
4.0	2.0	0.40	0.10
5.0	2.5	0.50	0.00

测定酶活性:

1. 加 0.5、10、15、20 mg 酶至 10 ml 的 0.05 M 柠檬酸盐缓冲溶液中 pH 4.8 并旋转。

2. 吸 0.5 ml 制备的酶试样至配对的试管中。

3. 在制作培养曲线期间重复操作步骤 2—8。

4. 测定于 550 nm 的吸收值。

测定在酶中的糖:

1. 吸 0.5 ml 的 20 mg/ml 酶试样至成对的试管 A 中。

2. 吸 0.5 ml 的稀释蒸馏水至成对的试管 B 中。

3. 加 1.0ml pH4.8 的 0.05 M 柠檬酸盐缓冲液至试管 A、B 中。

4. 在制作校正曲线时重复步骤 5—7。

5. 测定在 550 nm 的吸收值。

6. 计算吸收校正因素(ACF)如下:

$$ACF = \frac{(\text{吸收 A} - \text{吸收 B})}{(20\text{mg 酶}/10\text{ ml}) \times 0.5\text{ml}}$$

计算具体的酶活性：

1. 用葡萄糖校正曲线，计算吸收，该吸收为 2 mg 葡萄糖重量的值（参见图 2）。

2. 利用吸收校正因素 (ACF) 由酶得到吸收系数：

$$Abs_{\text{校正}} = Abs - ACF \times E \quad (\text{此处 } E = \text{在 } 0.5\text{ ml 的 mg 酶})$$

3. 由  $Abs_{\text{校正}}$  对  $E$  作图得到图 3。

4. 利用图 3 找出  $E'$  相应的  $Hbs'$ 。

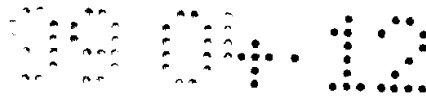
5. 计算具体的活性：

$$\text{活性 (1U/mg)} = \frac{2\text{ mg 葡萄糖}}{E'_{\text{mg h}}} \times \frac{1\text{ 小时}}{60\text{ 分钟}} \times \frac{\text{mmole}}{0.18\text{ mg 葡萄糖}}$$

实施例 5: 酶水解过程

将预处理过的物料 (7.5g 干重) 从反应器转入 500 ml 的三角玻璃烧瓶。调节酶系统的 pH 和温度分别在 4.8 和 50°C。该 pH 通过加入醋酸从约 11.5 降至约 4.8。总的液体体积通过加入蒸馏水增至 150 ml 以得到 50g/l 粗渣浆料。将纤维酶和纤维二糖加入至该混合物，并将盖好的烧瓶在空气浴中于 50°C 以 100 rpm 振荡 3 天。酶水解的控制材料采用 150 ml 的 0.05 M 的 pH4.8 的柠檬酸盐缓冲液。

三天后，用 1000 ml Eppendorf 移液管从每一烧瓶中取出 1 ml 液体样。将该试样在一盖紧的试管沸腾 30 分钟以变性该酶，由此避免进一步水解。沸腾过的试样通过 0.45 μm 尼龙滤膜过滤。用 DNS 试验测定还原糖浓度 (Miller, G. L., Anal. Chem. 1956, 31, 462) 用葡萄糖作为校正标准。由此所报导的糖收率为等当量葡萄糖/g 干生物物质。纤维酶和纤维二糖含有糖。为了测定这些糖，将酶加入至 150 ml 水成为前述所采用的相同浓度，但不加任何生物物质。取 1 ml 试样测定糖浓度。在该酶数量所测定的糖为校正值以校正 45 mg eq 葡萄糖/g 干生物物质即由预处理过的料渣减去被酶作用 3 天的



还原糖)。将水解试样稀释 13-33 倍使测试在 10.1-1.0 mg/ml)浓度范围。

详细的水解过程由以下给出:

1. 打开反应器一端并尽可能地将内容物出空倒入到标记过的 500 ml 三角烧瓶中。

2. 为了全部将生物物质转移用水洗涤该反应器。将水和料渣倾入烧瓶中。加入足够的水 (洗涤水+ 预处理期间的水)使总的液体体积为 140 ml。

3. 将冰醋酸加到混合物直到 pH 达到 4.8,在醋酸加入期间,连续测量 pH 并用磁棒搅拌。注意醋酸加入的体积。如果 pH 低于 4.8,用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  升至 4.8。

4. 加水使总液体积至 150 ml

5. 加 0.259 纤维酶粉剂 “Cytolase 300P” (过滤纸活性, 215 IU/g 粉剂)以及 0.652 ml 纤维二糖 “NOVOzyme” (活性 250 CBU/ml)。Cytolase 300 P 由 Genecor, Inc (南费城, 加州)供应, 而纤维二糖由 NOVO 实验室 (康州, 惠尔顿)供应。纤维酶负荷为 7.4 IU/g 干的预处理木素纤维素以及纤维二糖的负荷为 22 (CBU/g 干的木素纤维素。

6. 将烧瓶放入 100 rpm 振荡的于 50 °C 的空气浴中。

7. 烧瓶温热 10 分钟后用橡皮塞紧烧瓶。

8. 将烧瓶在浴在保持 3 天。

9. 取出 1 ml 试样在加盖的试管中沸腾 30 分钟。

10. 通过 0.45 nm 尼龙滤膜过滤试样。进行 DNS 检定以测定还原糖 (如以下所说明的)。

实施例 6:二硝基水杨酸 (DNS)检定

该 DNS 检定是用于测定纤维素水解释放的还原糖的十分通常的技术。用标准葡萄糖作为校准, 而将测定的还原糖为 “等当量葡萄

糖”。

— 制备 DNS 试剂：

1. 溶解 10.6g 3,5-二硝基水杨酸晶体和在 1416 ml 蒸馏水的 19.8g NaOH 溶液中。

2. 加 306g 酒石酸 Na-K (Rochelle 盐)。

3. 用水浴于 50°C 在通风柜下熔融苯酚结晶体，加 7.6 ml 苯酚至上述混合物中。

4. 加 8.3g 焦亚硫酸钠

5. 如果需要，加 NaOH 至该溶液调节 pH 至 12.6。

标准 DNS 试剂

1. 采用 200 ml/dl (2 mg/ml) 标准葡萄糖，根据表 5 制备在配对试管中的 1 ml 试样。

2. 取每一试样 0.5 ml

3. 用 5 ml Brinckmann 分配器与每一试管中分配 1.5 ml DNS 试剂。

4. 在试管上加盖并振荡。

5. 在水浴上煮沸样品 15 分钟。

6. 将试管冷却几分钟。加 8 ml 蒸馏水并振荡。

7. 将蒸馏水将在分光光度计的 550 nm 处调吸收值为 0。

注意：为了使分光光度计稳定，至少在用前 1 小时开机)。

8. 测量吸收值

9. 制作校准曲线，如图 4 中所示。



表 6 制备标定葡萄糖的标准溶液 (用 DNS 测定)

葡萄糖浓度 (mg/mL)	标准液 (mL)	蒸馏水 (mL)
0.2	0.10	0.90
0.4	0.20	0.80
0.6	0.30	0.70
0.8	0.40	0.60
1.0	0.50	0.50

测定试样的还原糖：

1. 稀释过滤后的试样在每对试管的糖浓度在 0.1—10 mg/ml 之间。
2. 振荡稀释的样品。
3. 吸取 0.5 ml 每一稀释的样品。
4. 在每一试管中分配 1.5 ml DNS 试剂。
5. 重复 4—8 的步骤用于制作校正曲线。
6. 用校准曲线从样品的吸收值计算糖浓度。
7. 由以下表示式计算还原糖产率：

$$Y = S \times D \times 20$$

$Y$  = 还原糖产率 (mg eq 葡萄糖/g 干生物物质)

$S$  = 样品中的糖浓度 (mg eq 葡萄糖/ml)

$D$  = 稀释因子

$20$  = 150 ml 液体体积 / 7.5g 干生物物质

实施例 7: 氢氧化钙的回收

预处理的生物物质有二个因素推动了氢氧化钙的回收, 首先, 廉价的回收和循环工艺可以降低预处理的成本。第二, 高钙残留量

是具有对家畜饲料有不利的影响。因此，降低钙含量产生更为有用的物料。回收  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  的方法为预处理过的物料用水洗涤，将含有氧化钙的洗涤水与  $\text{CO}_2$  接触。转换溶解的  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  成不溶的  $\text{CaCO}_3$ ，可以通过沉淀回收。然后将  $\text{CaCO}_3$  加热产生  $\text{CaO}$  和  $\text{CO}_2$ 。将  $\text{CaO}$  水合成为  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ，可重新用作木质素纤维处理剂。二氧化碳反过来可重新用于  $\text{CaCO}_3$  的回收。因此，典型地，它是一个可以全部循环的系统。

当 pH 低于 9.5 时，碳酸盐的浓度相当低。因此，为了形成更多的  $\text{CaCO}_3$  沉淀，pH 保持在 9.5 以上。

所有的回收实验采用生物物质完成。为了研究回收工艺该实验通过二种不同方式进行：连续回收和分批回收。

#### 1. 连续回收：

在图 5 中显示连续回收实验的设备体系的流程图。将预处理过的生物物质放入 1" 内径 × 8.5" 高的玻璃柱中。将橡皮塞塞住入口（底部）和出口（顶部）过滤器（尼龙布）粘结在二个塞上。用蠕动泵（Watson—Mariow 5025）泵水通过该柱。其平均体积流速为 20 ml/分钟。自该柱出口进入 300 ml 烧瓶二氧化碳/饱和的石灰水鼓泡以产生  $\text{CaCO}_3$ 。pH 探头放在该烧瓶中连续监测其 pH。仅通过鼓入  $\text{CO}_2$  将 pH 保持在接近 9.5（当需要将 pH 从约 12.0 至较低 pH 9.5 时）。然而，因为没有良好 pH 控制当 pH 降至 9.5 以下时，需要加入  $\text{NH}_4\text{OH}$ （约 1 或 2 ml）以使 pH 回到 9.5。从烧瓶中的溢流液进入配套的过滤器。尽管大多数  $\text{CaCO}_3$  留在烧瓶中，仍需要过滤除去存在于溢流中的  $\text{CaCO}_3$ 。在烧结玻璃过滤器和玻璃缸之间放置一个玻璃纤维过滤器（Gb, Fisher Scientific, Inc.）。用一夹子夹住它并保证良好的连接。该泵抽气驱动力用于过滤。当它们由于  $\text{CaCO}_3$  浆堵塞时，周期性地调换过滤器。然后将过滤水泵回到该柱用于洗涤，由此完成整个循环。

一小时后停止洗涤。夹自过滤器将在玻璃缸中的洗涤水转入烧瓶，为了让  $\text{CaCO}_3$  沉降静止 24 小时。取自烧瓶顶部渣液 (1 ml)。慢慢滗出渣液并收集在另外的烧杯中。其底部含有较高数量的  $\text{CaCO}_3$ ，测定其容积后扔掉。将相同体积的新鲜水加至该系统使在沉淀和倾滗之前和之后的液体体积相同。进一步回收留在料渣中的石灰，是用倾滗出的水，分批进行 45 分钟。洗涤后，将  $\text{CaCO}_3$  的饱和水再使其沉淀析出，而渣液液体的试样用作第二次沉淀。

为了测量洗涤期间在水中的钙浓度，从柱的入口和进口周期性地取 1 ml 试样。钙浓度通过自动吸收仪（购自得克萨斯 A & M 化学工程部的动力组）测定。根据钙的浓度试样稀释 11—135 倍，由于在  $65^\circ\text{—}100^\circ\text{C}$  之间得到最好的收率，该宽广的范围保证找到最佳温度。预处理时间逻辑地选择在 1—36 小时，由于难于经济地确定更长的时间。为了保证均一地混合反应混合物，以及可能得到较佳的预处理，除了有一个研究用周期性振荡外，常常采用连续振荡。

在所有的实验中，用 3 天的还原糖产量作为石灰处理料渣的酶的敏感性的测量。典型地，分别在 6 小时和 24 小时释放 3 天的 50% 和 85% 的糖。

表 7 概括了用在多种料渣实验中的条件和反应器系统。

表 7 各种料渣实验所用的条件

实施例	反应系统	温度 (°C)	时间 (小时)	石灰负荷 (gCa(OH) <sub>2</sub> /100g)	水负荷 (g water/g)	颗粒尺寸
1	1	65	1,3,6, 12,24,26	30	10,15,19	-40 目
2	2	65	24	30	6,8,10,13, 15,17,19	-40 目
3	3	65,125	12,6	30	6,8,10,13, 15,17,19	-40 目
4	3	135	1,3,6,24	10,20,30	10,15	-40 目
5	3	100	1,3,24	10,20,30	10,15	-40 目
6	1	50	1,3,6,24	2,5,10,15, 20,30	10	-40 目
7	3	85	3,24	5,10,15,20	10	-40 目
8	3	65	3,6,24	5,10,15,20	10	-40 目
9	3	65	24	10,15	10	-1x1 毫米 +40 目

在 50°C 的实验 (料渣试验, 实施例 2), 石灰负荷 = 5g Ca(OH)<sub>2</sub>/100 g 干料渣, 水负荷 = 10 g 水/g 干料渣, 而处理时间为 1 和 24 小时重复三次, 以找到在测定了一天还原糖产量中免不了的误差。1 小时运转的产量为 112,125,111 mg eq 葡萄糖/g 干料渣, 显示 7.8 mg eq 葡萄糖/g 干料渣的标准偏差。24 小时运转, 其产量为 273, 256, 268 mg eq. 葡萄糖/g 干料渣, 显示 8.7 mg eq · 葡萄



糖干料渣的标准偏差。这些标准偏差可普遍化地应用在余下的实验中，由此而不必再重复其它的实验。

#### 实施例 8, 醋酸钙抑制试验:

因为用醋酸 (用约 5 ml 冰醋酸处理石灰负荷为 30 g  $\text{Ca}(\text{OH})_2/100$  g 干料渣的一试样) 中和石灰以调节 pH 所以在水解混合物中存在高的醋酸钙浓度。为了测定醋酸钙对酶抑制, 并且实验是在氨化的料渣进行, 但以报导的最佳条件下进行。这些氨化条件是: 温度 93 °C; 处理时间为 30 分钟; 水负荷为 0.25 g 水/g 干料渣, 氨负荷为 1.5g  $\text{NH}_3/\text{g}$  干料渣, 颗粒尺寸为 40 目。

同时, 由于压力慢慢释放, 它们没有爆裂 (如用在氨纤维爆裂工艺)。这种预处理物料在含有各种醋酸钙浓度的酶溶液中被水解。通过加入各种数量的  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (按照用在预处理的石灰负荷) 至 150 ml 水中, 然后加入醋酸以降低 pH 至 4.8 来制备醋酸钙溶液。于是, 在这些溶液中的醋酸钙浓度象在石灰预处理的物料中的浓度一样。将酶加入至溶液以后仅仅是在 pH4.8, 之后加入酶, 于是, 并不由于它的 pH 而不失去酶酸性。从氨处理过的物料得到的 3 一天糖产量清楚地表明由于醋酸钙抑制酶, 增加  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  负荷降低糖产量。将没有添加  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  的水解的试样至糖化的烧瓶, 该糖产量为 390 mg eq · 葡萄糖/g 干料渣。分别在 2,5,10,15,20 和 30g  $\text{Ca}(\text{OH})_2/100$  g 干料渣溶液中水解得到的近似试样的产量为 1.16, 1.14, 1.16, 1.15, 1.25 和 1.22。在以下的实验中采用石灰预处理, 用这些因子校正该糖产量。因为该近似值是简化的以及仅仅近似校正醋酸钙抑制, 该报导的原值 (无校正因子) 另加校正值。

#### 实施例 9: 数据的观察 (料渣)

未处理料渣试样的 3 天还原糖产量 (用作对照) 为 40mg eq · 葡萄糖/g 干料渣, 它仅是理论产量的约 6%。在表 7 中列出许多不同条件, 产生高的糖产量。六种高产条件列于表 8 中, 用于工业的条

件的选择不仅取决于糖产量，还取决于条件的昂贵与否。

表 8 得到高产量的条件

试样号	温度 (°C)	时间 (小时)	钙负荷 (g/g)	水负荷 (g/g)	原收率 (mg/g)	校正收率 (mg/g)
1	65	24	30	10	597	728
2	100	24	10	10	580	673
3	65	24	15	10	555	640
4	65	24	10	10	533	618
5	100	1	10	15	525	609
6	135	1	10	10	517	600

#### 实施例 10：针叶树新闻纸研究

针叶树新闻是最大部分的大城市住宅的固体废料。有效利用针叶树新闻纸将有助于解决日益增多的废料处理问题。针叶树新闻纸的组成约为 70% 的多糖和 30% 木质素，由此，理论产量约 750 mg eq·葡萄糖/g 干新闻纸。本研究的目的是评价用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  预处理新闻纸的可行性。用于预处理针叶树的条件概入于表 9 中。

表 9 用于新闻纸实验的各种条件概况

实验编号	反应系统	温度 (°C)	时间 (小时)	石灰负荷 g Ca(OH) <sub>2</sub> /100g	水负荷 g water/g
1	3	120	1,3,6,24	30	6,8,10,12 14,16
2	3	60	1,6,24	5,10,20,30	10
3	3	100	24,3	5,10,15, 20,30	10,15

#### 实施例 11: (新闻纸)数据观察

用未处理过的针叶树新闻纸试样的 3 天还原糖产量 240 mg eq · 葡萄糖/g 干新闻纸作为对照。许多对木质素纤维处理良好的预处理工艺,对针叶树新闻纸来说未必如此。该问题可能产生于它的高木质素含量。在本研究中发现用 Ca(OH)<sub>2</sub> 预处理与其它预处理比较,产量提高可以提高。

在所有的试验过的条件中,得到最佳产量为于 120°C, 24 小时, 30g Ca(OH)<sub>2</sub>/100g 干新闻纸以及 16 g 水/g 干新闻纸。其产量为 344 mg eq · 葡萄糖/g 干新闻纸(校正后为 430 mg/g)。一种有趣的现象是预处理在非常剧烈的条件(120 °C, 24 小时)又在非常温和的条件 165°C, 1 小时)预处理情况均较好。

#### 实施例 12: 小麦草研究

小麦草是最丰富的农作物废料,在美国,约 20% 作物地生产小麦,于是产生大量的小麦草。典型地,小麦草为 39% 纤维,36% 半纤维以及 10% 木质素(基于干重)。根据它的组成,最大的理论产量约为 800 mg eq · 葡萄糖/g 干小麦草。

料渣处理的结果可用以指导小麦草处理条件的选择,研究的石

灰负荷为 5, 10, 15 和 20 g Ca(OH)<sub>2</sub>/100 g 干小麦草, 仅用二种水负荷。处理温度为 50, 65, 85 和 125℃ 以及处理时间为 1, 3 和 24 小时。处理条件的概况列于表 10 中。

表 10 用于小麦草实验中的各种条件概况:

实验编号	反应体系	温度 (°C)	时间 (小时)	石灰负荷 gCa(OH) <sub>2</sub> /100g	水负荷 g H <sub>2</sub> O/g
1	3	65	3, 24	10	6, 10, 15, 19
2	3	65	1, 3	5, 10, 15, 20	10
3	1	50	3, 24	5, 10, 15	20
4	3	85	1, 3, 24	5, 10, 15, 20	10
5	3	125	1, 3, 12, 24	5, 10, 15, 20	10

### 实施例 13: 数据的观察

如在料渣的条件下, 几种不同的条件产生良好的产量。由于处理时间和温度在工艺经济中起最重要的作用, 条件的选择并不完全严格地取决于糖产量。产生良好产量的 8 种条件列于表 11 中。



表 11 石灰处理小麦草产生高收率的条件

试样号	温度 (°C)	时间 (小时)	钙负荷 (g/100 g)	水负荷 (g/g)	原收率 (mg/g)	校正收率 (mg/g)
1	50	24	10	15	585	679
2	85	3	10	10	579	672
3	50	24	20	10	575	667
4	85	3	20	10	558	698
5	85	24	20	10	559	698
6	50	3	10	10	555	639
7	65	24	10	10	543	630
8	125	1	10	10	533	618

#### 实施例 14: 钙回收研究

在料渣和小麦草两者, 石灰负荷为 10—20 gCa(OH)<sub>2</sub>/10 g 干物料得到最佳产量。于是, 用这种负荷的工业过程将需要显著数量的石灰。一种回收和循环石灰的工艺可降低总的石灰需要量。由于 Ca(OH)<sub>2</sub> 是十分便宜, 因此对回收工艺的一个主要要求它应该简单而不昂贵。

在本发明中开发了一种新的回收工艺。将 Ca(OH)<sub>2</sub> 浸析或从预处理过的生物物料中洗出。该饱和石灰的洗涤水碳酸化以转换成 Ca(OH)<sub>2</sub> 形成不溶的 Ca(OH)<sub>3</sub>, 然后将其沉降。回收的 Ca(OH)<sub>3</sub> 可煅烧成 CaO, 并可水合成 Ca(OH)<sub>2</sub> 而回用。在本研究中, 进行洗涤、碳酸化和沉淀步骤。

实验按两种不同的、相似的、连续的和分批回收方法进行。

#### 实施例 15 连续的回收方法

按照连续的回收方法, 进行三步步骤, 将 Ca(OH)<sub>2</sub> 从蔗渣中回收出来。在石灰连续回收中所用的石灰反应条件列于表 12。相关的实施例的回收结果列于表 13。

表 12 用于连续回收的蔗渣反应条件

样品	温度 (°C)	时间 (小时)	Ca 负荷 (g/100g)	水填料 (g/g)
A	85	3	10	10
B	85	3	15	10
C	100	1	10	10

表 13 连续回收中钙浓度的变化

洗涤水中的 钙浓度 实施例	(ppm) 起始	(ppm) 最终	蔗渣的钙浓度	
			g/100g (ppm) 起始	(ppm) 最终
A	1075	33	5.4	2.1
B	1392	10	8.1	2.3
C	947	19	5.4	2.0

原料蔗渣样品中钙成份为 0.4g Ca/ 100g 干蔗渣。在蔗渣样品中残余钙成份为约 2g 钙/ 100g 干蔗渣到 5.4g 钙每 100g 干蔗渣 (样品 A 和 C) 以及从 2.3g 钙/100g 干蔗渣到 8.1g 钙/100g 干蔗渣 (样品 B)。这表明从样品 A 和 C 中回收到 68% 的添加钙, 以及从实施例 B 中回收到 75% 的添加钙。成份减少表明回收法相当有利。然而如果将预处理的木素纤维用作为中饲料, 则残余钙浓度可能稍许高些 (理想的为 1 到 2g 钙第 100g 干生物料)。

观察连续回收实验, 其主要缺点之一是某些管道中含有填充蔗渣的钙。而洗涤水未接触到所有的预处理材料, 这肯定会降低该方法效率。通过运用某些容装物料和有效的塔的设计方案, 则可能增加连续回收方法效率。但是本发明采用了第二种相似法 (即, 分批回收) 以使得洗涤水和蔗渣较好的接触混和。

#### 实施例 16 分批回收方法

在该实验中，采用玻璃烧杯取代容装预处理物料的塔，以混和蔗渣和洗涤水。该洗涤水中饱和以  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ，且 pH 为 8.7。过滤后得到饱和石灰洗涤水通入以  $\text{CO}_2$ ，所得含  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  的溶液待处理。

预处理条件和相应的钙成份分别列于表 14 和表 15。

表 14 分批回收中蔗渣反应条件

样品	温度 (°C)	时间 (小时)	Ca 填料 (g/100g)	水填料 (g/g)
D,E	65	24	10	10
F,G,H, I,J,K	65	24	15	10

表 15 分批回收中钙浓度的变化

样品	洗涤 次数	(gNH <sub>4</sub> OH /100g) 洗涤水	洗水中钙 浓度 (ppm) 起始	(ppm) 最终	蔗渣中 钙浓度 (ppm) 起始	(ppm) 最终
D	6	0	955	7	5.4	1.7
E	6	0	892	16	5.4	1.7
F	6	0	1109	14	8.1	2.2
G	10	0	1192	13	8.1	1.5
H	10	0.2	1154	6	8.1	1.5
I	10	0.4	1056	6	8.1	1.4
J	10	1.6	1306	12	8.1	1.6
K	10	8.7	1070	4	8.1	1.7
未处理	10	0	988	8	8.1	1.3

前三个样品 (D,E,和 F) 洗涤了 6 次而其他实施例洗涤了十次。对于 10g  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ /100g 干蔗渣的石灰负荷 (实施例 D 和 E)，洗涤了 6 次，钙浓度减少到约 1.7g Ca 每 100g 干蔗渣，对于 15gCa

$(\text{OH})_2/100\text{g}$  干蔗渣的石灰负荷 (实施例 P), 洗涤 6 次, 钙浓度减少到  $2.2\text{g Ca}/100\text{g}$  干蔗渣。则回收到约 75% 的添加钙。

样品 F 和 G 经过同样的石灰处理, 而实施例 F 洗涤 6 次, 实施例 G 再另外添加洗涤四次。所添加的洗涤将残余成份从 2.2 减少到  $1.5\text{g Ca}$  每  $100\text{g}$  干蔗渣。因而 10 次洗涤可回收 86% 添加钙。

因为钙原子可能化学地连结于纤维和其他蔗渣的大分子, 因此简单的用水洗涤不能超过一个规定极限。为了使所连结的钙离子 (+2) 用  $\text{NH}_4$  大离子取代, 石灰处理的蔗渣用氢氧化铵溶液洗涤。氢氧化铵浓度从 0.2 到  $8.7\text{g NH}_4\text{OH}/100\text{g}$  水之间变化,  $\text{NH}_4\text{OH}$  为氨在水中的 30% (w/w) 溶液。

这些实验表明氨化的洗涤水不能进一步回收钙。

在所有前面的样品中, 将氨加入到碳酸化的水中, 以调节 pH 值到 9.5, 这可以确定控制碳酸根离子, 且增加了  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  的沉淀。对于样品 R 和 I, 分析钙的实施例通过处理碳酸化到 pH 6.7 的洗涤水, 以及加入氨将碳酸化洗涤水的 pH 值升到 9.5。可以发现 pH 必须为 9.5 以有效地回收  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 。虽然实验用氨调节 pH 到 9.5, 工业上将通过控制  $\text{CO}_2$  的加入量来完成。石灰反应后, pH 约 11.5。只需加入  $\text{CO}_2$  以将 pH 值减低到 9.5。

全部的回收实验表明, 除了石灰负荷以外, 其它预处理条件 (即, 反应时间, 温度和水的负荷) 不影响回收方法。如果预处理反应会阻碍回收方法, 则石灰可从未处理物料中回收出来, 即蔗渣和  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  的物理混和物。洗涤水中钙浓度与其他样品相似。残余钙浓度为  $1.3\text{g Ca}/100\text{g}$  干蔗渣, 为所有回收实验中所得最低的。但似乎比从预处理方法所得连结到生物物质的钙要多些。但是因为预处理物料的十次洗涤残余下约 1.5 到  $1.7\text{g Ca}$  每  $100\text{g}$  干蔗渣, 因而对于预处理物料和未处理物料的回收方法, 不存在很大差别。

重要的问题是多久能使  $\text{CO}_2$  气体能降低 pH, *Trichoderma ree-*

sei 纤维酶在 pH 4.8 下操作。预处理生物料的 pH 为 11.5, 因而要加入酸以降低 pH。在乙醇发酵法中, 生成大量  $\text{CO}_2$ , 为廉价的 pH 调节酸。为了解决这一问题, 可进行一简单实验, 在一些石灰饱和的洗涤水样品通入  $\text{CO}_2$  气体鼓泡约 15 分钟, 最小 pH 为约 6.5。由此, 需要比  $\text{CO}_2$  更强的酸使 pH 至 4.8。对于在 pH 7 例如: 在细窗中操作的纤维酶系统 (即: *Clostridium thermocellum*) 更为需要。

由此看出氢氧化钙是一种优异的预处理剂, 许多不同条件产生高的糖产率。对糖产率水负荷没有显著的影响。虽然 10g 水/g 干物料产生稍高的产率。石灰负荷为 10—15g  $\text{Ca}(\text{OH})_2/100\text{g}$  干物料工作良好。通常地发现较低温度 (50°C、60°C) 时需要较长的时间 (24 小时), 而较高的温度 (135°C (需要较短的时间 (1 小时) 以产生高的产率。

回收工艺可降低在料渣中钙含量自 8.1 至约 1.5g  $\text{Ca}/100\text{g}$  物料, 由此可回收加入的钙的 86%。

#### 实施例 17 循环方法

为了防止加入过量的石灰, 可将生物物质与热石灰水溶液接触。该过程可通过下列途径实现:

方法 1: 将热饱和石灰水溶液 (温度范围为约 40°C 至约 150°C) 通过生物物质的填料床循环约 1—36 小时。当溶液排出填料床时, 加热以替补在填料床中失去的热量。饱和石灰水溶液可通过用水混合过量石灰和由过滤, 水力旋流器分离 (图 6)、沉降或离心从水相分离出过量的固体石灰而制成的。

方法 2: 将热饱和石灰水溶液 (温度范围为约 40°C 至约 150°C) 通过和生物物质的搅拌稀浆循环约 1—36 小时。生物物质通过过滤器、水力旋流器 (图 7)、沉降器或离心机从溶液中分离。当排出溶液离开水力旋流器中时, 加热以替代在搅拌稀浆中失去的热量。饱和石灰水溶液可通过用水混合过量石灰和由过滤、水力旋流器分离

(图 7)、沉降法或离心从水相分离过量的固体石灰而制备。

在方法 1 或方法 2 中，在循环中；必须总是保持石灰固体在温度范围（如 40℃和 150°之间）的最高温度处与热水接触。这是因为石灰相对地在冷水中比在热水中易溶。如果与石灰固体接触的水是冷水，就可能会溶解太多的石灰。那么，如果以后再加热石灰溶液，石灰就会沉淀并堵塞热交换器或沉积于生物物质上。这就解释了为什么应在水与石灰固体接触前面不是在这之后加热水。

#### 实施例 18：不同的更动

本发明需要的物质包括：生物物质，石灰或氢氧化钙和水。本发明的操作工艺包括：混合、加热、同时混合及加热。因此，这些物质和操作过程可能具有一些的变动，如图 8 图解所示。在图 8 中所使用的符号为：L\石灰；W-水；B-生物物质；M-混合；H-加热；和 M & H-同时混和及加热。在图 8 中的箭头表示加入、引入或所进行的一个步骤。

#### 实施例 19：生产反刍动物饲料的石灰处理方法

图 9 显示了生产反刍动物饲料的石灰处理方法。如图所示，可将石灰直接加入至生物物质，或者，生物物质可与饱和石灰水的循环溶液接触以防止过量石灰的加入。不考虑加成方法，将原料生物物质浸入热石灰水（约 65℃）24 小时。然后，在完成反应后，石灰水通过吸收柱循环，在此地与二氧化碳接触。二氧化碳与石灰反应形成不溶性的碳酸钙，过滤并置于石灰窑中。在石灰窑中将碳酸钙加热至约 1200℃，赶出二氧化碳。热的排出气体（主要为带有一些来自燃烧空气中的氮气的二氧化碳）在对流热交换器中冷却并回收高压蒸汽，它可用于发电和/或加热。冷却的二氧化碳重新循环至吸收柱，使二氧化碳与石灰水再次反应。惰性物质如氮气会从吸收柱中排出。必须要加入生成的二氧化碳以替补任何损失。

循环石灰水含有从生物物质中提取的游离糖和蛋白质。另外，

还有一些从半纤维素上的乙醛基团制得的乙酸钙。从循环圈中移走放气气流，并用硫酸酸化使得钙离子以石膏状沉淀。利用适当技术（如反向渗透或多效蒸发）浓缩游离糖、蛋白质和乙酸(HAc)。它可作为单胃肠动物（如鸡、猪）饲料出售。

被处理的物质以湿润态从该过程中排出。如果反刍动物离加工场很近，它们就可直接食用该湿润态的生物物质。如果它在消费前必须贮存一段时间，可将其在先前公开的内容中提及的蒸汽干燥器中干燥。

#### 实施例 20 用氢氧化钙和加压氧气的预处理

氧气被认为可部分氧化木质素，它打开生物物质的结构使之更易被酶消化。从高压氧气罐中排出的氧气在加压(图 10)下加入至报纸样品中。处理条件与上述条件一致。生物物质温度为 120°C，加热 24 小时，加入 30g 氢氧化钙/100g 干报纸及水/干报纸为 16g/g。将逐渐加大量的含氧气体从高压罐中引入至报纸样品中。预处理之后，样品被酶消化，三天后测定葡萄糖产量。仅用石灰处理的报纸得到的收率为 418 mg eq 葡萄糖/g 干报纸。为了便于比较，未处理的原报纸收率为 240 mg eq 葡萄糖/g 干报纸。用 20 磅/平方英寸表压 (psig)，葡萄糖收率上升 10%。氧气压力上升到 100 psig，葡萄糖收率上升到 500 mg eq 以上。

有用的氧气压力为约 20 psig 至 500 psig 之间，并且较佳的为约 100 至 400 psig。氧气从高压源如纯氧气、含氧气体或压缩空气供应给生物物质。

在实验(图 11)的第 2 列中，报纸样品用 30g 石灰/100g 干报纸、6g 水/g 干报纸和 100 psig 氧气预处理。预处理这些样品 24 小时。经预处理的样品用酶消化，测定含糖量。预处理 3 小时后观察氧气压力为 100 psig 时的最大收率为 580 mg eq 葡萄糖/g 干报纸。

在本说明书的领域中及本发明公开的实际中，对普通技术人员

来说，本发明其它具体体现和用途是非常明显的。说明书和实施例仅用作举例说明，而本发明的真正范围和精神则在下述权利要求中说明。



说明书附图

图 1

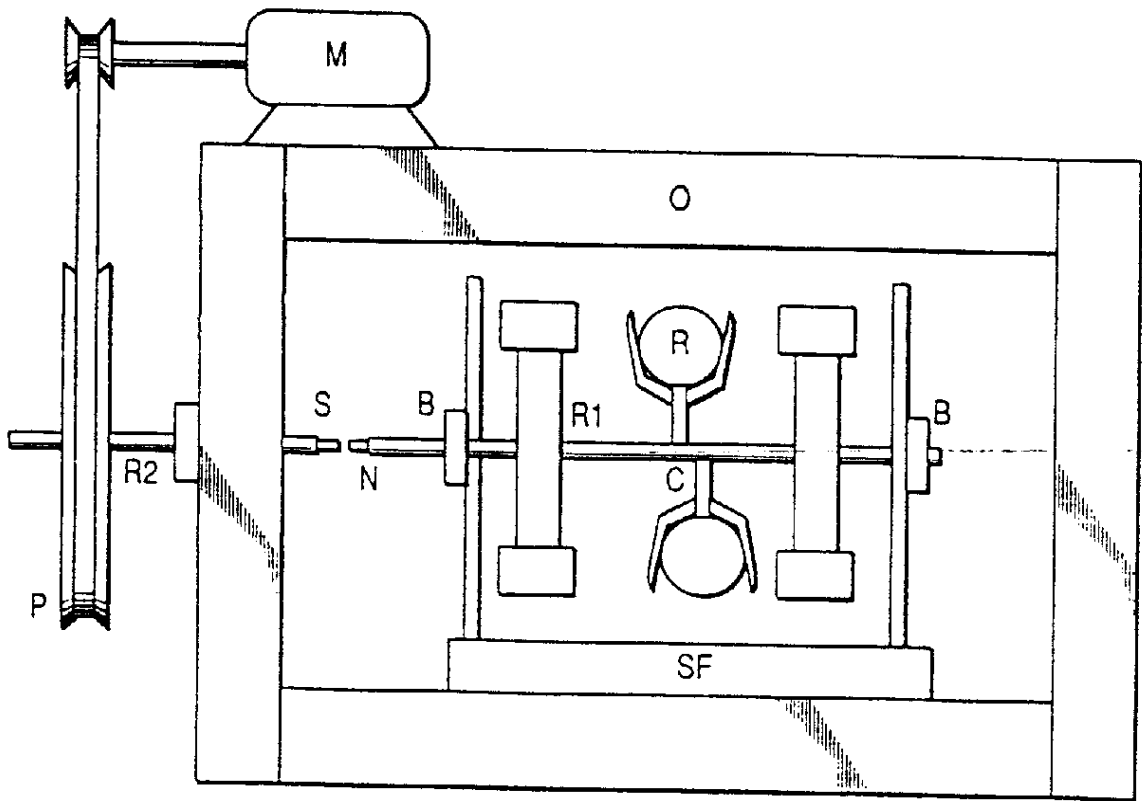


图 2

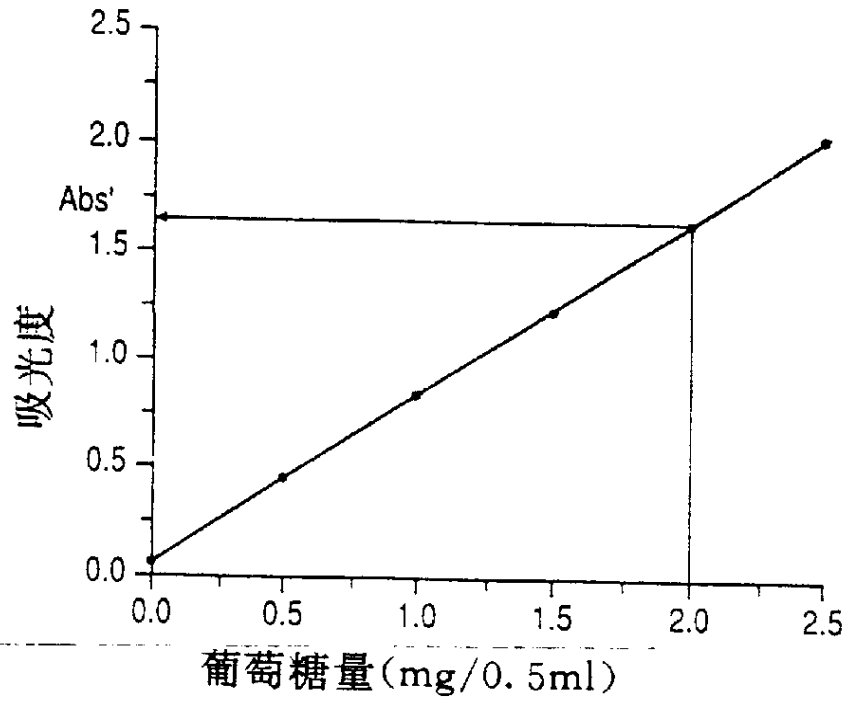


图 3

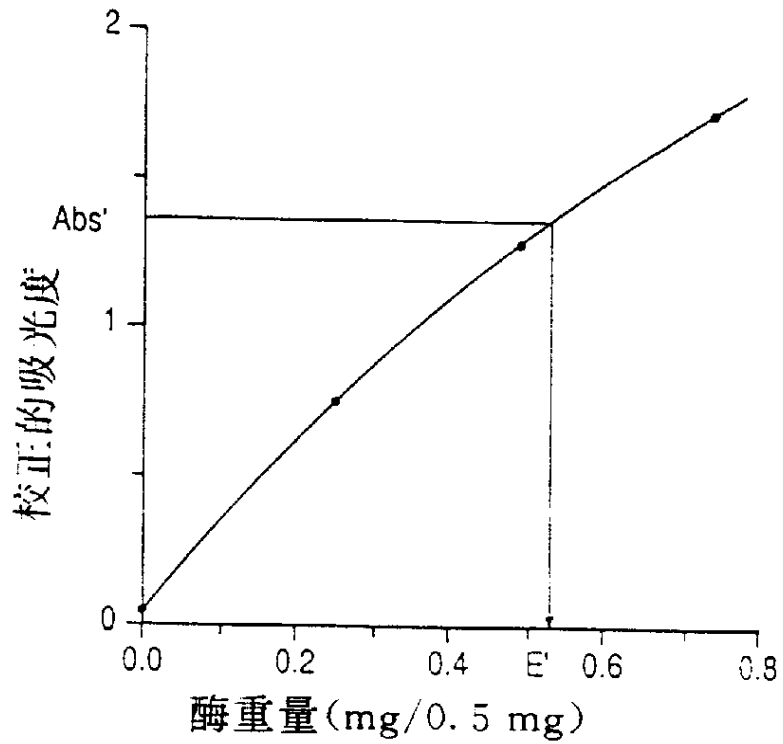


图 4

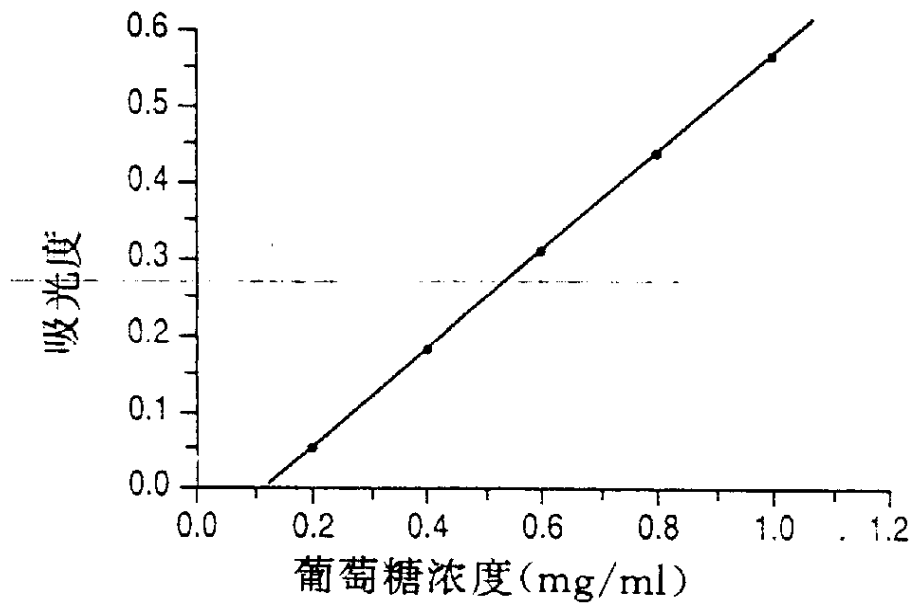


图 5

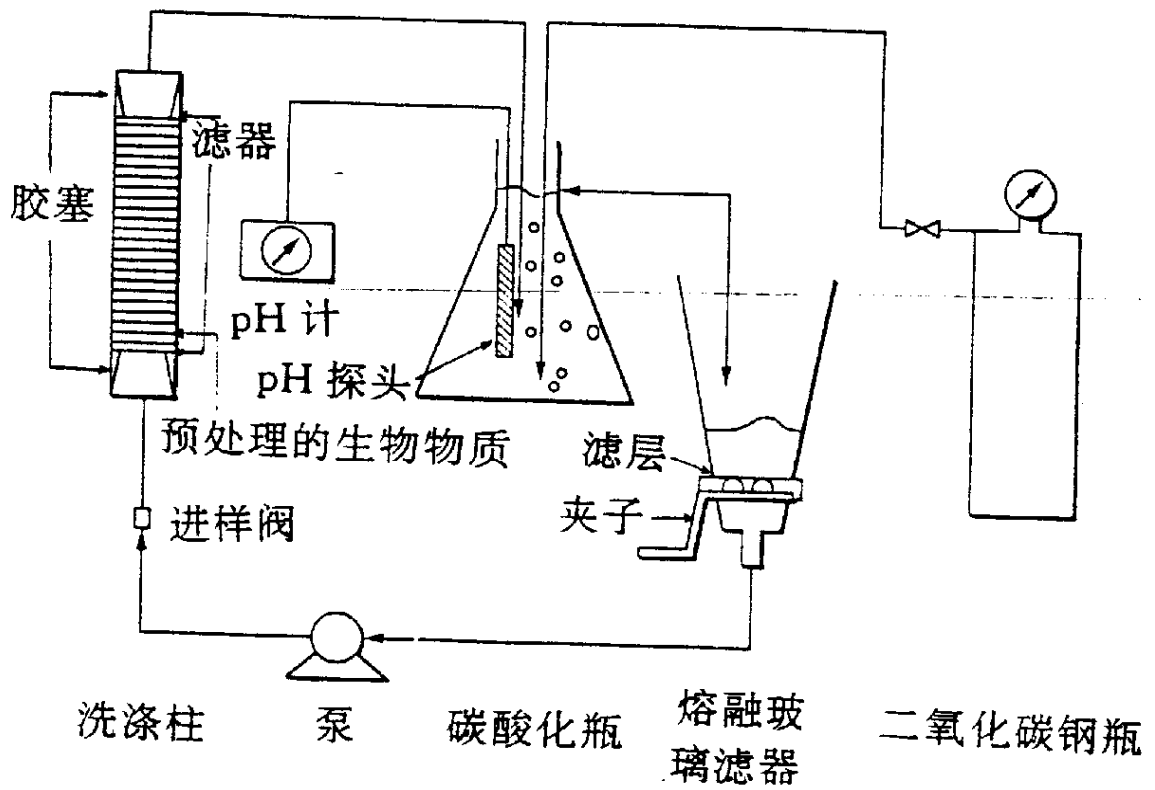


图 6

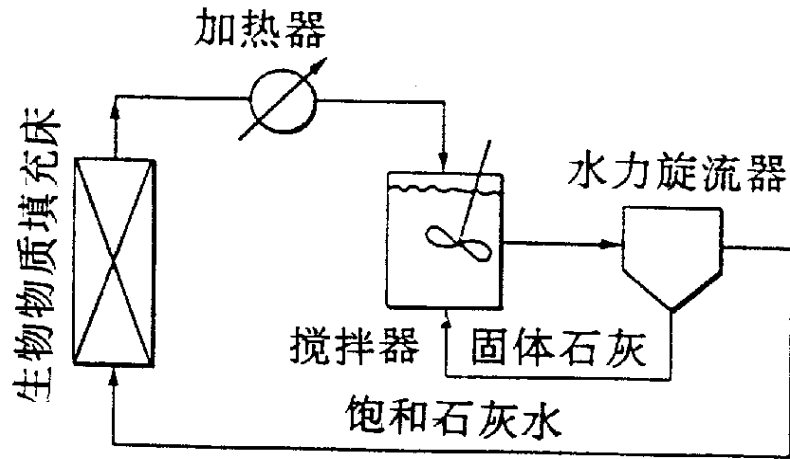
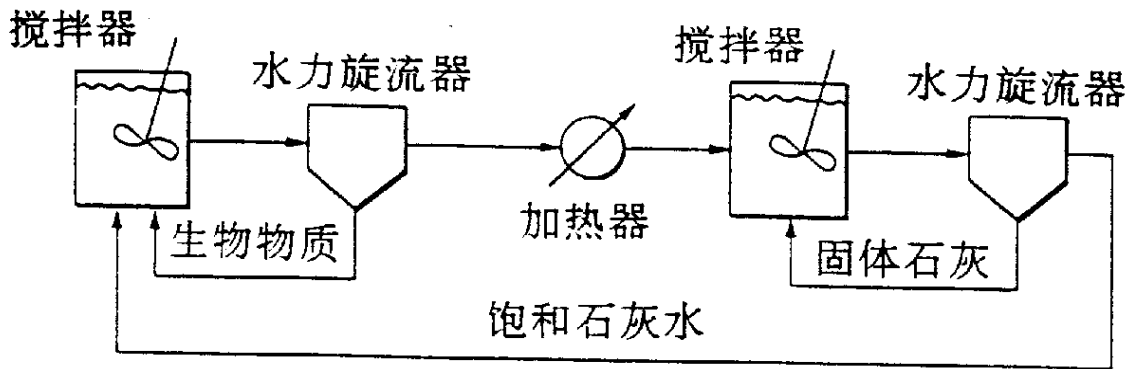


图 7





8

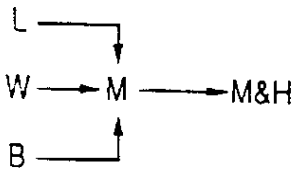
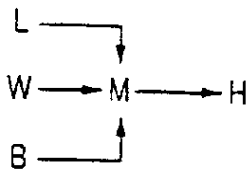
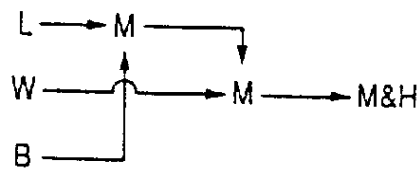
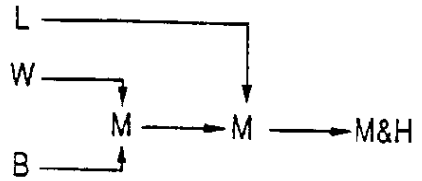
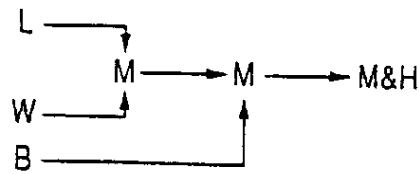
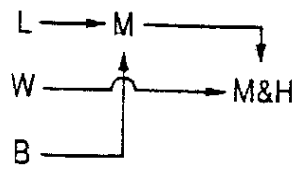
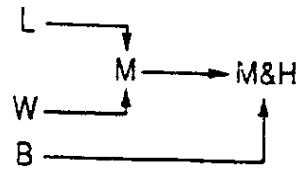
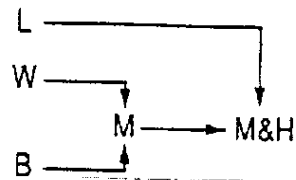
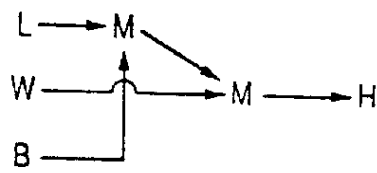
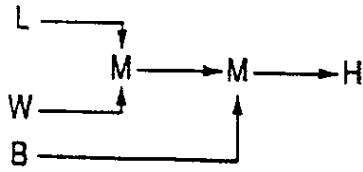


图 9

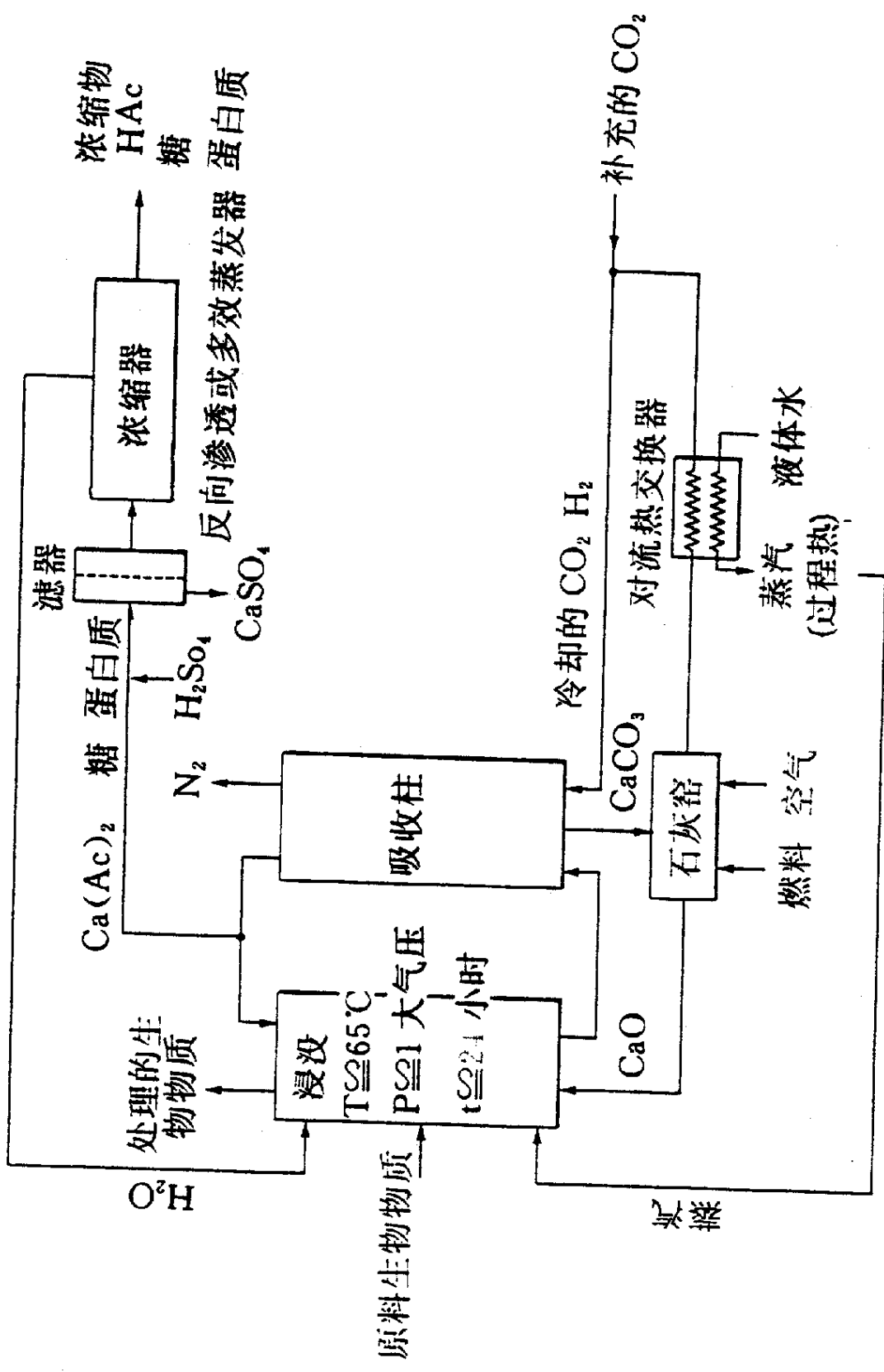


图 10

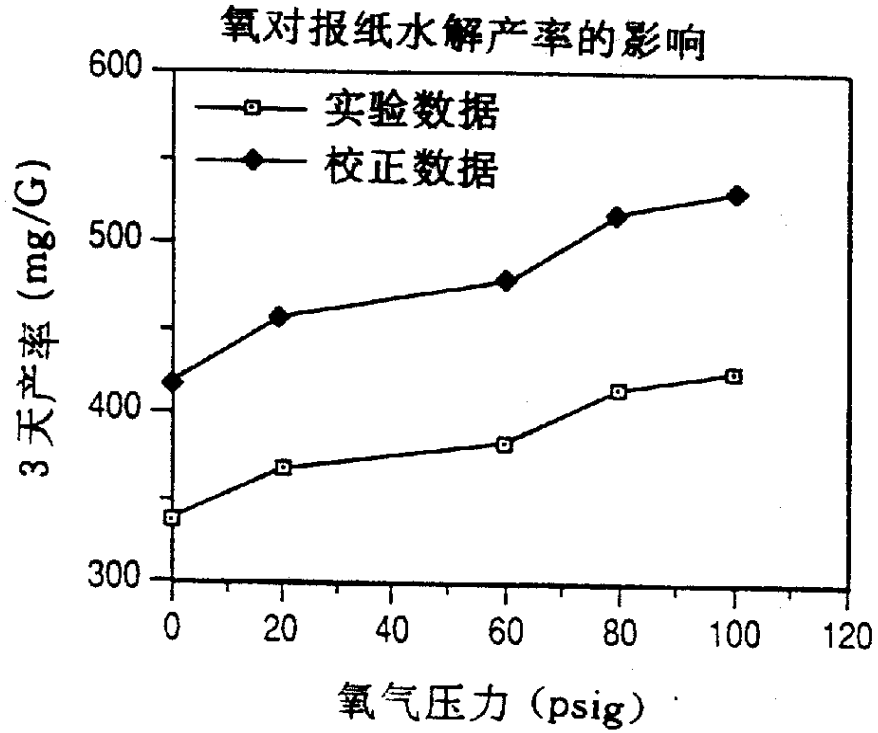


图 11

