



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2014.04.30

(21) Номер заявки
201190059

(22) Дата подачи заявки
2009.12.10

(51) Int. Cl. **C12P 7/64** (2006.01)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БИОНЕФТИ ИЗ БИОМАССЫ

(31) **MI2008A 002249**

(32) **2008.12.18**

(33) **IT**

(43) **2012.02.28**

(86) **PCT/EP2009/008862**

(87) **WO 2010/069516 2010.06.24**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭНИ С.П.А. (IT)

(72) Изобретатель:
**Бьянки Даниеле, Романо Анна Мария,
Францоси Джулиана, Бозетти Альдо
(IT)**

(74) Представитель:
Поликарпов А.В. (RU)

(56) DAI ET AL.: "Biodiesel generation from oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* with xylose assimilating capacity", AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, vol. 6, 2007, pages 2130-2134, XP008101992, cited in the application, See pages 2131-2132 (Preparation of hemicellulosic...) and page 2133 (Lipid production)

MARZIALETTI ET AL.: "Dilute acid hydrolysis of loblolly pine: a comprehensive approach", INDUSTRIAL AND ENGINEERING CHEMICAL RESEARCH, vol. 47, August 2008

(2008-08), pages 7131-7140, XP002553893, See page 7131 (Abstract) and pages 7138-39 (Conclusions); early online publication

EL-FADALY ET AL.: "Conversion of corn protelan to microbial oil by *Rhodotorula glutinis*", JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES, MANSOURA UNIVERSITY, vol. 33, January 2008 (2008-01), pages 5271-5281, XP002553847, See page 5272 (Methods)

LI ET AL.: "Optimization of culture conditions for lipid production by *Rhodosporidium toruloides*", CHINESE JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, vol. 22, 2006, pages 650-656, XP022857389, See page 650 (Abstract)

MOYA ET AL.: "Fermentation of acid hydrolysates from olive-tree pruning debris by *Pachysolen tannophilus*", BIOPROCESS AND BIOSYSTEMS ENGINEERING, vol. 31, March 2008 (2008-03), pages 611-617, XP019631489, See page 611 (Abstract); early online publication

ZHAO ET AL.: "A new route to improved glucose yields in cellulose hydrolysis", AICHE 2006 Annual Meeting, San Francisco, California, USA, 2006, page 42, XP002634981, Retrieved from the Internet: URL:www.biorefinery.nl/fileadmin/biorefinery/docs/AICHE_2006_Biorefineries.pdf [retrieved on 2011-05-02], See the Abstract

WO-A2-2010046051

WO-A1-2010015404

(57) Способ получения бионефти из биомассы, включающий проведение кислотного гидролиза указанной биомассы в присутствии водного раствора по меньшей мере одной органической кислоты, выбранной из алкил- или арилсульфоновых кислот, содержащих от 7 до 20 атомов углерода, или из галогенированных карбоновых кислот, при температуре от 80 до 160°C, с получением первой смеси, содержащей первую твердую фазу и первую водную фазу; проведение ферментативного гидролиза указанной первой смеси с получением второй смеси, содержащей вторую твердую фазу и вторую водную фазу; проведение сбраживания указанной второй водной фазы в присутствии по меньшей мере одного вида жирных дрожжей с получением водной суспензии, содержащей клетки указанных жирных дрожжей; проведение термической обработки указанной водной суспензии с получением маслянистой фазы, содержащей бионефть, и третьей водной фазы. Полученную таким образом бионефть можно преимущественно использовать в производстве биотоплива.

Настоящее изобретение относится к способу получения бионефти из биомассы, включающей по меньшей мере один полисахарид.

Более конкретно, настоящее изобретение относится к способу получения бионефти из биомассы, содержащей по меньшей мере один полисахарид, включающему проведение кислотного гидролиза указанной биомассы, проведение ферментативного гидролиза смеси, полученной в результате указанного кислотного гидролиза, проведение сбраживания сахаров, полученных в результате указанных кислотного и ферментативного гидролиза, в присутствии по меньшей мере одного вида жирных дрожжей и проведение термической обработки водной суспензии, включающей клетки указанных жирных дрожжей, полученной в результате указанного сбраживания.

Полученную таким образом бионефть можно преимущественно использовать в производстве биотоплива, которое можно использовать как таковое или в смеси с другими видами топлива для автотранспортных средств. Или указанную бионефть можно использовать как таковую (биогорючее), или в смеси с ископаемыми горючими (нефтяное топливо, лигнит и т.д.) для генерирования электрической энергии.

В общем биомасса представляет собой любое вещество, имеющее органическую, растительную или животную основу, которое может быть предназначено для энергетических целей, например в качестве исходного материала для получения биотоплива и/или биогорючего, или компонентов, которые можно добавлять к топливу и/или горючему. Поэтому биомасса может составлять обновляемый источник энергии, в качестве альтернативы традиционным исходным материалам ископаемого происхождения, обычно используемым в производстве топлива. Для этой цели особенно пригодна лигноцеллюлозная биомасса.

Производство сахаров из биомассы, в частности из лигноцеллюлозной биомассы, известно в уровне техники.

Лигноцеллюлозная биомасса представляет собой комплексную структуру, включающую три основных компонента: целлюлозу, гемицеллюлозу и лигнин. Их относительное количество зависит от типа используемой лигноцеллюлозной биомассы. Например, в случае растений указанное количество зависит от вида и возраста растения.

Целлюлоза является наибольшей составляющей лигноцеллюлозной биомассы и обычно присутствует в количестве от 30 до 60 мас.% относительно общей массы лигноцеллюлозной биомассы. Целлюлоза состоит из молекул глюкозы (примерно от 500 до 10000 единиц), связанных между собой через β -1,4-гликозидную связь. Установление водородных связей между цепями вызывает образование кристаллических доменов, которые придают стойкость и эластичность растительным волокнам. В природе она встречается в чистом состоянии только в однолетних растениях, таких как хлопок и лен, тогда как в древесных растениях ей всегда сопутствуют гемицеллюлоза и лигнин.

Гемицеллюлоза, которая обычно присутствует в количестве от 10 до 40 мас.% относительно общей массы лигноцеллюлозной биомассы, представляет собой смешанный полимер, относительно короткий (от 10 до 200 молекул) и разветвленный, образованный как из сахаров с шестью атомами углерода (глюкоза, манноза, галактоза), так и из сахаров с пятью атомами углерода (ксилоза, арабиноза). Некоторые важные свойства растительных волокон обусловлены присутствием гемицеллюлозы, причем среди этих свойств главным является содействие впитыванию влаги указанными растительными волокнами в присутствии воды, вызывающему их набухание. Гемицеллюлоза также имеет адгезионные свойства и поэтому имеет тенденцию затвердевать или приобретать ороговевшую консистенцию при дегидратации, вследствие чего указанные растительные волокна становятся жесткими и медленнее впитывают влагу.

Лигнин обычно присутствует в количестве от 10 до 30 мас.% относительно общей массы лигноцеллюлозной биомассы. Его основная функция состоит в связывании и цементировании растительных волокон друг с другом, чтобы придать растению уплотненное строение и стойкость, а также он обеспечивает защиту от насекомых, патогенных веществ, патологических изменений и ультрафиолетового излучения. Его главным образом используют в качестве горючего, но он в настоящее время широко используется в промышленности в качестве диспергирующего агента, отвердителя, эмульгатора, для полимерных слоистых материалов, картона и резиновых изделий. Его также можно химически обрабатывать с получением ароматических соединений, таких как ванилин, сиреневый альдегид, *p*-гидроксibenзальдегид, которые можно использовать в фармацевтической химии или в косметической и пищевой промышленности.

Для оптимизации преобразования лигноцеллюлозной биомассы в продукты для энергетических целей известна предварительная обработка указанной биомассы для отделения лигнина и гидролиза целлюлозы и гемицеллюлозы до простых сахаров, таких как, например, глюкоза и целлюлоза. Указанные сахара можно использовать в качестве источника углерода в процессах сбраживания в присутствии микроорганизмов для производства спиртов и/или липидов.

Например, в заявке на патент US 2008/0102176 описан способ экстракции растительных жиров, включающий измельчение исходного материала, содержащего целлюлозу, чтобы получить частицы диаметром 1-2 мм; погружение частиц в серную кислоту при концентрации 1-2%, чтобы подкислить указанные частицы для увеличения гидролиза целлюлозы и регулирования pH до значения $4,5 \pm 0,5$; удаление частиц, подкисленных серной кислотой; добавление последовательно целлюлазы и жирных дрожжей к подкисленным частицам и проведение сбраживания в течение 8-9 дней при температуре 25-30°C и влажности 85-90%; добавление алифатического углеводорода в качестве растворителя к продуктам сбражива-

ния, чтобы экстрагировать жиры с получением экстракционной смеси; удаление подкисленных частиц, оставшихся в экстракционной смеси, и отделение жиров от растворителя путем перегонки с получением неочищенного масла. Целлюлаза предпочтительно представляет собой *Trichoderma viride*, а жирные дрожжи представляют собой *Rhodotorula glutinis*. Полученные жиры могут быть преобразованы в биодизельное топливо после этерификации.

Dai et al. описывают производство биодизельного топлива из жирных дрожжей в статье "Biodiesel generation from oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* with xylose assimilating capacity", опубликованной в "African Journal of Biotechnology" (2007), Vol. 6 (18), p. 2130-2134. В этой статье лигноцеллюлозную биомассу измельчают и подвергают кислотному гидролизу в присутствии серной кислоты. Полученные таким образом сахара используют в качестве источника углерода в процессе сбраживания в присутствии предварительно селективированного штамма *Rhodotorula glutinis*, с возможностью использования также пентозы, ксилозы, в частности с целью получения масел, которые впоследствии экстрагируют путем экстракции Сокслета и подвергают переэтерификации для получения биодизельного топлива.

Также известны в технике различные типы термической обработки (такие как, например процессы сжижения, гидротермическая обработка), которые позволяют преобразовывать биомассы (такие как, например, лигноцеллюлозная биомасса, биомассы, получаемые из органических отходов, сельскохозяйственных отходов и/или отходов сельскохозяйственной промышленности, биомассы, получаемые из бытовых отходов) в жидкие продукты, чтобы преобразовать объемный материал, с которым трудно обращаться и который имеет низкую удельную энергоемкость, в бионефть, имеющую высокую удельную энергоемкость (т.е. высокую теплотворную способность), которую можно использовать как таковую в качестве биотоплива и/или биогорючего, или в качестве источника химических продуктов, или источника биотоплива и/или биогорючего.

Более подробные сведения, касающиеся термической обработки (гидротермической обработки или обработки для сжижения) биомасс, можно найти, например, в "Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects", "Mechanisms of Thermochemical Biomass Conversion Processes. Part 3: Reactions of Liquefaction" (2008), 30:7, p. 649-6459; или в "Energy & Environmental Science" (2008), "Thermochemical biofuel production in hydrothermal media: A review of sub- and supercritical water technologies", 1, p. 32-65.

В патенте US 4334026 описан биотермический гибридный способ сжижения для улучшения сжижения соединений, содержащих углерод, для получения жидкого топлива, содержащего спирт, включающий подачу органических соединений в реактор сбраживания; сбраживание указанных органических соединений при условиях, подходящих для получения спирта, в биологической жидкой культуре; разделение жидкого топлива, содержащего спирт, и остатка сбраживания; удаление воды и введение указанного остатка сбраживания в термохимический реактор; термохимическое преобразование, по меньшей мере, большей части органического компонента указанного остатка сбраживания при высокотемпературных условиях с получением термохимически преобразованных продуктов и остатков термохимической обработки, причем часть по меньшей мере одного из указанных термохимически преобразованных продуктов или их производных либо указанных остатков термохимической обработки направляют в указанный реактор сбраживания. В качестве органических соединений можно использовать наземные или водяные растения (например, водоросли), лесные и/или сельскохозяйственные отходы, промышленные отходы и т.п.

В патенте US 4935567 описан способ сжижения биомассы, содержащей целлюлозу, чтобы получить сжиженный продукт, причем способ включает (а) подачу биомассы, воды и органической жидкости, содержащей кислород (например, сложный эфир, кетон, спирт), в реакционный сосуд, с получением смеси, которая, по существу, состоит из указанной биомассы, указанной органической жидкости и воды, причем общее количество органической жидкости, содержащей кислород, и воды в указанной смеси составляет 5-20 мас.ч. относительно массовых частей биомассы (сухая масса), а количество органической жидкости, содержащей кислород, в указанной смеси составляет 5-80% относительно общего количества указанной жидкости и воды; (б) нагревание указанной смеси до 200-400°C при давлении 0,3-10 МПа (3-100 атм) с получением сжиженного продукта в форме маслянистой жидкой фазы, присутствующей совместно с водной фазой; (в) отделение указанной маслянистой жидкой фазы от указанной водной фазы и извлечение указанной маслянистой жидкой фазы в качестве сжиженного продукта; (г) нагревание указанной маслянистой жидкой фазы для отгонки соединений, имеющих низкую температуру кипения, и извлечение сжиженного продукта, имеющего повышенную теплотворную способность, в качестве остатка перегонки. Для ускорения сжижения указанный способ сжижения можно выполнять в присутствии щелочного катализатора (например, гидроксид натрия, гидроксид калия, карбонат натрия, карбонат калия и т.п.). Полученный таким образом сжиженный продукт можно использовать в качестве топлива или в качестве исходного материала для различных химических соединений.

Однако вышеописанные способы могут иметь различные недостатки.

Чтобы гидролизовать оба полисахаридных компонента биомассы (например, гемицеллюлозу и целлюлозу), например, в частности, в присутствии разбавленной серной кислоты (например, при concentra-

ции от 0,5 до 11%), необходимо работать при высоких температурах (например, выше 160°C). При этих температурах происходит образование побочных продуктов, образующихся из дегидратации сахаров и из частичной деполимеризации лигнина. Эти побочные продукты, в частности фурфурол, гидроксиметилфурфурол, фенольные соединения, могут действовать как ингибиторы роста микроорганизмов, обычно используемых в последующих процессах сбраживания сахаров. Более того, в присутствии разбавленной серной кислоты выход сахаров, в частности глюкозы, обычно низкий (например, ниже 50%).

Более того, перед проведением сбраживания сахаров может быть необходимо нейтрализовать серную кислоту, чтобы получить значения pH, приемлемые для последующего сбраживания. Нейтрализацию обычно выполняют путем добавления оксидов и/или гидроксидов, таких как, например, оксид кальция, гидроксид кальция или гидроксид бария, с последующим образованием солей (например, сульфата кальция, дигидрат сульфата кальция ("гипса"), сульфата бария), которые выпадают в осадок и поэтому должны быть отделены от сахаров перед тем, как их подвергают сбраживанию. К тому же, эти соли должны быть впоследствии утилизированы посредством подходящей обработки, что приводит к увеличению производственных расходов. Более того, извлечение и повторное использование указанной неорганической кислоты является обременительным и чрезвычайно трудным.

Присутствие спирта в жидком топливе, получаемом путем сжижения, также может вызывать трудности при отделении указанного жидкого топлива от водной исходной биомассы, из-за высокой полярности указанного жидкого топлива. Более того, использование органической жидкости (например, сложный эфир, кетон, спирт) в способе сжижения может создавать трудности при фазовом отделении маслянистой жидкой фазы от водной фазы из-за присутствия указанной органической жидкости, в дополнение к увеличению производственных расходов.

Теперь заявитель обнаружил, что получение бионефти из биомассы (т.е. конверсию биомассы в жидкие продукты, которые можно использовать, например в качестве биогорючего и/или биотоплива), в частности из биомассы, включающей по меньшей мере один полисахарид, можно преимущественно выполнять посредством способа, который включает проведение кислотного гидролиза указанной биомассы в присутствии водного раствора по меньшей мере одной органической кислоты, при температуре ниже или равной 160°C, проведение ферментативного гидролиза смеси, полученной в результате указанного кислотного гидролиза, проведение сбраживания сахаров, полученных в результате указанных кислотного гидролиза и ферментативного гидролиза, в присутствии по меньшей мере одного вида жирных дрожжей, и проведение термической обработки водной суспензии, включающей клетки указанных жирных дрожжей, полученной в результате указанного сбраживания.

С помощью этого способа получают многочисленные преимущества. Например, указанный способ позволяет получить высокий выход сахаров пентозы и гексозы, получаемых в результате кислотного гидролиза указанной биомассы, которые можно впоследствии использовать в качестве источника углерода в процессах сбраживания жирных дрожжей для производства бионефти. Полученную таким образом бионефть можно преимущественно использовать в получении биотоплива, которое можно использовать как таковое или смешанное с другими видами топлива для автотранспортных средств. Или указанную бионефть можно использовать как таковую (биогорючее) или в смеси с ископаемыми горючими (нефтяное топливо, лигнит и т.д.) для генерирования электрической энергии или тепла.

Более того, возможность работы при невысокой температуре, т.е. ниже или равной 160°C, позволяет снизить образование побочных продуктов, таких как, например, фурфурол, гидроксиметилфурфурол, фенольные соединения, которые могут действовать как ингибиторы роста микроорганизмов, обычно используемых в последующих процессах сбраживания сахаров.

Другое важное преимущество состоит в том, что указанный способ позволяет извлекать органическую кислоту, которую затем можно направлять рециклом на предшествующие стадии способа, в частности на кислотный гидролиз биомассы. Указанное извлечение также позволяет устранить стадию нейтрализации и, следовательно, получение солей и их последующую утилизацию.

Другое значительное преимущество состоит в том, что водную фазу, которую получают после термической обработки водной суспензии, содержащей клетки указанных жирных дрожжей, включающую сахара, гликозидные и белковые фракции, растворимые в воде, получаемые в результате термической обработки (термического гидролиза) белков и полисахаридов, содержащихся в клеточной мембране используемых жирных дрожжей, можно направлять рециклом на предшествующие стадии способа, в частности ее можно направлять рециклом на сбраживание. Таким образом, возможно снизить количество азота, который обычно следует добавлять в культурную среду, в которой происходит сбраживание, и обеспечить дополнительное количество сахаров для сбраживания.

Следовательно, предмет настоящего изобретения относится к способу получения бионефти из биомасс, содержащих по меньшей мере один полисахарид, включающему

проведение кислотного гидролиза указанной биомассы в присутствии водного раствора по меньшей мере одной органической кислоты, выбранной из алкил- или арилсульфоновых кислот, содержащих от 7 до 20 атомов углерода, предпочтительно от 9 до 15 атомов углерода, или из галогенированных карбоновых кислот, при температуре от 80 до 160°C, предпочтительно от 100 до 150°C, с получением первой

смеси, содержащей первую твердую фазу и первую водную фазу;

проведение ферментативного гидролиза указанной первой смеси с получением второй смеси, содержащей вторую твердую фазу и вторую водную фазу;

проведение сбраживания указанной второй водной фазы в присутствии по меньшей мере одного вида жирных дрожжей с получением водной суспензии, содержащей клетки указанных жирных дрожжей;

проведение термической обработки указанной водной суспензии с получением маслянистой фазы, содержащей бионефть, и третьей водной фазы.

В настоящем описании и последующей формуле изобретения определения численных интервалов включают предельные значения, если не указано иное.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанный полисахарид можно выбирать из целлюлозы, гемицеллюлозы или их смесей. Особенно предпочтительными являются целлюлоза или смеси гемицеллюлозы и целлюлозы.

В соответствии с другим предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанная биомасса представляет собой лигноцеллюлозную биомассу. Как уже отмечено выше, лигноцеллюлозная биомасса включает три компонента: гемицеллюлоза, целлюлоза и лигнин.

Указанную лигноцеллюлозную биомассу предпочтительно выбирают из

продуктов зерновых культур, специально культивируемых в энергетических целях (например, мискантус, просо, обыкновенный тростник), включающих побочные продукты, остатки и отходы указанных зерновых культур или их обработки;

продуктов сельскохозяйственного культивирования, лесоразведения и лесоводства, включающих древесину, растения, остатки и побочные продукты сельскохозяйственной обработки, лесоразведения и лесоводства;

побочных продуктов сельскохозяйственных продуктов питания, предназначенных для человеческого питания или животных кормов;

не подвергнутых химической обработке остатков бумажной промышленности;

отходов, поступающих из раздельного сбора твердого городского мусора (например, городские отходы растительного происхождения, бумага и т.д.).

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанную биомассу можно предварительно обрабатывать путем размола или измельчения перед проведением кислотного гидролиза. Указанную биомассу предпочтительно обрабатывают до получения частиц диаметром от 0,1 до 10 мм, более предпочтительно от 0,5 до 4 мм. Особенно предпочтительными являются частицы диаметром менее 1 мм.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанная биомасса присутствует в реакционной смеси в количестве от 5 до 40 мас.%, предпочтительно от 20 до 35 мас.% относительно общей массы реакционной смеси.

В настоящем описании и последующей формуле изобретения термин "реакционная смесь" означает смесь, включающую биомассу и водный раствор указанной по меньшей мере одной органической кислоты.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанная по меньшей мере одна органическая кислота является растворимой в воде и экстрагируемой органическим растворителем, нерастворимым в воде.

В настоящем описании и последующей формуле изобретения термин "органическая кислота, растворимая в воде" означает органическую кислоту, имеющую растворимость в дистиллированной воде, при 25°C, составляющую по меньшей мере 0,5 г/100 мл дистиллированной воды, предпочтительно по меньшей мере 2 г/100 мл дистиллированной воды.

В настоящем описании и последующей формуле изобретения термин "органическая кислота, экстрагируемая органическим растворителем, нерастворимым в воде" относится к органической кислоте, которая может быть экстрагирована органическим растворителем, нерастворимым в воде, с выходом по меньшей мере 80%, предпочтительно по меньшей мере 90%, причем указанный выход рассчитывают относительно общего количества органической кислоты, присутствующей в водном растворе.

В настоящем описании и последующей формуле изобретения термин "органический растворитель, нерастворимый в воде" относится к органическому растворителю, который имеет растворимость в дистиллированной воде, при 25°C, менее 4 об.%, предпочтительно менее 2 об.%.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанные алкил- или арилсульфоновые кислоты можно выбирать из додецилсульфоновой кислоты, п-толуолсульфоновой кислоты, 1-нафталинсульфоновой кислоты, 2-нафталинсульфоновой кислоты, 1,5-нафталиндисулфоновой кислоты или их смесей. Особенно предпочтительными являются п-толуолсульфоновая кислота, 2-нафталинсульфоновая кислота, 1,5-нафталиндисулфоновая кислота или их смеси.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанные галогениро-

ванные карбоновые кислоты можно выбирать из таких кислот, содержащих не более 20 атомов углерода, предпочтительно от 2 до 15, таких как, например, трифторуксусная кислота, дихлоруксусная кислота, трихлоруксусная кислота, перфторкаприловая кислота или их смеси. Особенно предпочтительными являются дихлоруксусная кислота, трихлоруксусная кислота, перфторкаприловая кислота или их смеси.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанная по меньшей мере одна органическая кислота присутствует в водном растворе в концентрации от 0,1 до 5 мас.%, предпочтительно от 0,5 до 2,5 мас.% относительно общей массы водного раствора.

Указанная органическая кислота действует как катализатор для кислотного гидролиза указанной биомассы. В частности, когда исходная биомасса является лигноцеллюлозной биомассой, указанная органическая кислота специфически действует как катализатор для кислотного гидролиза гемицеллюлозы. Следует отметить, что способ, предмет настоящего изобретения, когда исходная биомасса является лигноцеллюлозной биомассой, не только позволяет достичь кислотного гидролиза гемицеллюлозы, но также позволяет улучшить расположение целлюлозы, которая, по существу, не подвергается гидролизу, для последующего ферментативного гидролиза благодаря улучшенной деградации исходной биомассы.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанный кислотный гидролиз можно выполнять в течение периода времени от 20 мин до 6 ч, предпочтительно от 30 мин до 3 ч.

Указанный кислотный гидролиз можно выполнять в реакторах, известных в уровне техники, таких как, например, автоклавы или подходящие экструдеры.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанная первая твердая фаза включает лигнин и целлюлозу, а указанная первая водная фаза включает по меньшей мере один сахар, содержащий от 5 до 6 атомов углерода, и по меньшей мере одну органическую кислоту. Указанный сахар предпочтительно представляет собой ксилозу. Указанная ксилоза предпочтительно образуется при кислотном гидролизе гемицеллюлозы.

Указанный кислотный гидролиз позволяет получить по меньшей мере один сахар, содержащий от 5 до 6 атомов углерода, в частности ксилозу, образующуюся при кислотном гидролизе гемицеллюлозы, с высоким выходом. Более конкретно, указанный кислотный гидролиз позволяет получить выход ксилозы более или равный 80%, причем указанный выход рассчитывают относительно общего количества ксилозы, присутствующего в исходной биомассе.

Указанный кислотный гидролиз также позволяет получить высокие выходы целлюлозы и лигнина.

Чтобы извлечь указанную по меньшей мере одну органическую кислоту, указанную первую смесь можно подвергнуть экстракции органическим растворителем, нерастворимым в воде.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанный способ включает проведение экстракции указанной первой смеси по меньшей мере одним органическим растворителем, нерастворимым в воде. Указанный по меньшей мере один органический растворитель, нерастворимый в воде, можно предпочтительно выбирать из галогенированных углеводородов, таких как, например, метилхлорид, хлорбензол, дихлорбензол или их смеси; ароматических углеводородов, таких как, например, толуол, ксилол или их смеси; C₄-C₆-алифатических спиртов, таких как n-бутанол, n-пентанол или их смеси. Особенно предпочтительными являются смеси, включающие по меньшей мере один C₄-C₆-алифатический спирт (например, бутанол) и по меньшей мере один ароматический углеводород (например, толуол).

Указанный органический растворитель, нерастворимый в воде, впоследствии выпаривают, получая дополнительную твердую фазу, включающую указанную по меньшей мере одну органическую кислоту.

Как указано выше, способ, предмет настоящего изобретения, позволяет извлекать по меньшей мере одну органическую кислоту с высоким выходом, в частности с выходом по меньшей мере 80%, предпочтительно по меньшей мере 90%, причем указанный выход рассчитывают относительно общего количества органической кислоты, присутствующего в указанном водном растворе. Поэтому согласно способу, предмету настоящего изобретения, указанную по меньшей мере одну органическую кислоту можно впоследствии направлять рецикл, в частности ее можно направлять рецикл на кислотный гидролиз. Следует отметить, что когда извлечение указанной по меньшей мере одной органической кислоты составляет 100%, указанная первая водная фаза не содержит указанной по меньшей мере одной органической кислоты. Более того, выпаренный органический растворитель после конденсации можно также направлять рецикл в способ по настоящему изобретению, в частности, ее можно направлять рецикл на указанную экстракцию.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанный способ также включает направление рецикл указанной по меньшей мере одной органической кислоты на указанный кислотный гидролиз.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанный способ также включает направление рецикл указанного по меньшей мере одного органического растворителя, нерастворимого в воде, на указанную экстракцию.

В целях способа, предмета настоящего изобретения, указанный ферментативный гидролиз можно выполнять в соответствии с технологиями, известными в технике, как описано, например, в патентах

US 5628830, US 5916780 и US 6090595, с использованием промышленных ферментов, таких как, например, Celluclast 1.5L (Novozymes), Econase CE (Rohm Enzymes), Spezyme (Gemecor), Novozym 188 (Novozymes), по отдельности или в смеси друг с другом.

Чтобы довести pH до значений от 4 до 6, предпочтительно от 4,5 до 5,5, к указанной первой смеси, перед ферментативным гидролизом, можно добавлять ледяную уксусную кислоту в таком количестве, чтобы получить требуемое значение pH.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанная вторая твердая фаза включает лигнин, а указанная вторая водная фаза включает по меньшей мере один сахар, содержащий от 5 до 6 атомов углерода, предпочтительно ксилозу, глюкозу, целлобиозу или их смеси. В частности, указанная вторая водная фаза включает ксилозу, образующуюся при кислотном гидролизе гемицеллюлозы, глюкозу и целлобиозу, образующиеся при ферментативном гидролизе целлюлозы.

В частности, этот ферментативный гидролиз позволяет получить высокий выход глюкозы, более конкретно, выход глюкозы выше или равный 90%, причем указанный выход рассчитывают относительно общего количества глюкозы, присутствующего в исходной биомассе.

Количество сахаров, содержащихся в исходной биомассе, так же как и количество сахаров, получаемое после гидролиза (кислотный гидролиз и/или ферментативный гидролиз), можно определить посредством методики, известной в уровне техники, такой как, например, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

Указанную вторую твердую фазу и указанную вторую водную фазу можно разделить посредством технологий, известных в уровне техники, таких как, например, фильтрация, центрифугирование. Указанные фазы предпочтительно разделяют фильтрацией.

Можно повысить сортность указанной второй твердой фазы, включающей лигнин, в качестве горючего, например в качестве горючего, необходимого для получения энергии, необходимой для обеспечения процессов обработки биомассы.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанное сбраживание можно выполнять при температуре от 20 до 40°C, предпочтительно от 25 до 35°C.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанное сбраживание можно выполнять в течение периода времени от 3 до 10 суток, предпочтительно от 4 до 8 суток.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанное сбраживание можно выполнять при pH от 4,5 до 6,5, предпочтительно от 5 до 6. Чтобы поддерживать pH в требуемом интервале, водный раствор по меньшей мере одного неорганического основания, такого как, например, гидроксид натрия, гидроксид калия, гидроксид кальция, гидроксид магния или их смеси, можно добавлять в культурную среду, используемую для ферментации, в таком количестве, чтобы получить требуемое значение pH.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанные жирные дрожжи можно выбирать из *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula gracilis*, *Rhodotorula graminis*, *Lypomices starkeyi*, *Lypomices lipofer*, *Trigonopsis variabilis*, *Candida kefyf*, *Candida curvata*, *Candida lipolytica*, *Torulopsis sp.*, *Pichia stipitis*.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанное сбраживание представляет собой сбраживание с периодической подачей.

Перед использованием в указанном сбраживании указанные жирные дрожжи предпочтительно выращивают в культурной среде, содержащей ксилозу, целлобиозу, глюкозу или их смеси, при концентрации предпочтительно от 1 до 2 мас.% относительно общей массы указанной культурной среды.

Указанное сбраживание можно преимущественно выполнять в бродильных аппаратах, известных в технике, в присутствии культурных сред, обычно используемых с этой целью, включающих различные питательные вещества, такие как, например, азот, фосфат калия, магний, соли, витамины.

Чтобы повысить концентрацию дрожжевых клеток в водной суспензии, полученной при сбраживании, указанную водную суспензию перед термической обработкой можно подвергать сгущению.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения по окончании сбраживания указанную водную суспензию можно направить на сгущение. На этой стадии концентрацию дрожжевых клеток доводят до значения от 5 до 50 мас.%, предпочтительно от 15 до 30 мас.% относительно общей массы (сухой массы) водной суспензии. Указанное сгущение можно выполнять, используя технологии, известные в технике, такие как, например, отстаивание, декантирование, флокуляция, фильтрация и т.п.

Указанная термическая обработка (гидротермическая обработка) предусматривает нагревание концентрированной водной суспензии, полученной на стадии сгущения, в сосуде под давлением. Указанную термическую обработку можно выполнять в различных режимах, например периодическим, полупериодическим или непрерывным способом.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанную термическую обработку можно выполнять при температуре от 80 до 350°C, предпочтительно от 150 до 330°C.

Давление предпочтительно поддерживают при таких значениях, чтобы сохранять по меньшей мере

часть воды в указанной водной суспензии в жидком состоянии.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанную термическую обработку можно выполнять при давлении от 0,1 до 25 МПа, предпочтительно от 0,5 до 18 МПа.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения указанную термическую обработку можно выполнять в течение периода времени, равного или более 1 мин, предпочтительно от 0,5 до 2 ч.

Хотя тепловую энергию, необходимую для термической обработки, можно получать либо полностью, либо частично путем рекуперации тепла или сжигания традиционных энергоносителей, например газообразного метана, СПГ (сжиженного природного газа), минерального топлива, угля и т.д., не исключена возможность получения тепловой энергии из солнечной энергии.

В течение указанной термической обработки также происходит разрушение клеточных мембран клеток жирных дрожжей, присутствующих в указанной водной суспензии, с получением смеси, включающей маслянистую фазу, содержащую бионефть, и водную фазу, содержащую сахара, гликозидные фракции и белки, растворимые в воде, получаемые из термической обработки (термическом гидролизе) белков и полисахаридов, содержащихся в клеточных мембранах используемых жирных дрожжей. Следует отметить, что часть указанных белков и указанных полисахаридов в течение указанной термической обработки может быть преобразована в бионефть.

В соответствии с предпочтительным воплощением настоящего изобретения по окончании указанной термической обработки полученную смесь (маслянистая фаза + водная фаза) можно охлаждать до температуры от 40 до 90°C, предпочтительно от 45 до 80°C, перед подачей этой смеси в секцию разделения/извлечения для разделения двух фаз.

Указанное разделение обычно выполняют посредством технологий, известных из уровня техники. Его можно преимущественно выполнять, например, посредством статического разделения или экстрагирования по меньшей мере одним органическим растворителем, нерастворимым в воде, который можно выбирать, например, из метилхлорида или углеводородных фракций нефтепереработки, с получением маслянистой фазы, включающей бионефть, и третьей водной фазы. Альтернативно, указанное разделение можно выполнять посредством фракционированной перегонки.

Указанную третью водную фазу, при необходимости, дополнительно охлаждают до температуры в интервале от комнатной температуры (25°C) до 50°C и направляют рециклом на сбраживание. Если примеси еще присутствуют (например, следы бионефти, следы ингибиторов и т.д.), указанную водную фазу можно подвергнуть обезвреживающей обработке, которую можно выполнять, например, фильтрацией, центрифугированием или экстракцией органическим растворителем, нерастворимым в воде (например, смесь толуола и н-бутанола).

В течение указанной термической обработки также образуется газообразная фаза, составляющая примерно 10-25 мас.% относительно массы (сухой массы) дрожжевых клеток, присутствующих в указанной водной суспензии, причем указанная газообразная фаза включает примерно 80-95 мол.% диоксида углерода и от 10 до 20 мол.% углеводородов, содержащих от 1 до 3 атомов углерода. Указанную газообразную фазу после разделения, которое можно выполнять, например, путем сбрасывания давления сосуда под давлением, в котором выполняют указанную термическую обработку, перед направлением на разделение смеси (маслянистая фаза + водная фаза), полученной при указанной термической обработке, обычно облагораживают с выделением ее углеводородного компонента в качестве горючего газа. Альтернативно, отделение газообразной фазы можно осуществлять в течение отделения маслянистой фазы от водной фазы.

Способ, предмет настоящего изобретения, позволяет извлекать бионефть с выходом от 50 до 95%, предпочтительно от 55 до 85%, причем указанный выход рассчитывают относительно общей массы (сухой массы) клеток жирных дрожжей, присутствующих в водной суспензии, полученной после сбраживания.

Бионефть, полученная посредством вышеописанного способа, можно направлять на последующие стадии обработки, чтобы преобразовать ее, например, в биотопливо посредством обработки, известной в уровне техники, такой как, например, гидрирование или крекинг.

Настоящее изобретение далее описано в иллюстративной форме со ссылкой на чертеж, приведенный ниже.

Согласно типичному воплощению способа, предмета настоящего изобретения, биомассу (линия 1) (например, предварительно измельченная лигноцеллюлозная биомасса) подвергают кислотному гидролизу в присутствии органической кислоты (например, 2-нафталинсульфоновая кислота), получая первую смесь (линия 2), включающую первую водную фазу, содержащую ксилозу, полученную при гидролизе гемицеллюлозы, и указанную органическую кислоту, и первую твердую фазу, содержащую лигнин и целлюлозу.

Как показано на чертеже, указанную первую смесь (линия 2) подвергают экстракции органическим растворителем, нерастворимым в воде (например, смесь толуола и н-бутанола), для извлечения указанной органической кислоты (линия 3) и направления ее рециклом, после выпаривания органического растворителя, на указанный кислотный гидролиз (линия 4). Указанный выпаренный органический раствори-

тель (линия 5) конденсируют, извлекают и направляют рециклом на указанную экстракцию (линия 6).

После экстракции органическим растворителем указанную первую смесь (линия 7) подвергают ферментативному гидролизу в присутствии фермента (например, водный раствор Celluclast 1.5L и Novozym 188) с получением второй смеси, содержащей вторую водную фазу, включающую ксилозу, полученную в результате кислотного гидролиза гемицеллюлозы, глюкозу и целлобиозу, полученные в результате ферментативного гидролиза целлюлозы, и вторую твердую фазу, содержащую лигнин.

Перед проведением ферментативного гидролиза указанной первой смеси (линия 7) в нее можно добавить ледяную уксусную кислоту для регулирования pH до значений от 4 до 6 (не показано на чертеже).

Указанную вторую водную фазу (линия 8) и указанную вторую твердую фазу (линия 9) разделяют путем фильтрации (не показано на чертеже).

Указанную вторую водную фазу (линия 8) подвергают сбраживанию в присутствии жирных дрожжей (например, *Lipomyces starkey* NRRL 1389).

По окончании сбраживания получают водную суспензию, включающую клетки указанных жирных дрожжей (линия 10), которую подвергают сгущению, чтобы повысить концентрацию клеток указанных жирных дрожжей в указанной водной суспензии, чтобы получить значения концентрации предпочтительно от 5 до 30 мас.% относительно общей массы (сухой массы) указанной водной суспензии.

По окончании сгущения концентрированную водную суспензию (линия 11) подвергают термической обработке, осуществляемой при температуре, давлении и времени выдержки, которые позволяют получить смесь, содержащую маслянистую фазу, включающую бионефть, и третью водную фазу, включающую сахара, гликозидные фракции и белки, растворимые в воде, образующиеся при термической обработке (термическом гидролизе) белков и полисахаридов, содержащихся в клеточной мембране используемых жирных дрожжей, и возможные примеси (например, следы бионефти).

В течение термической обработки также образуется газообразная фаза, содержащая CO₂ и газообразные углеводороды, содержащие от 1 до 3 углеродных атомов, которая может быть отделена, например путем сброса давления сосуда под давлением, в котором выполняют указанную термическую обработку, перед направлением полученной смеси (маслянистая фаза+водная фаза) после указанной термической обработки в секцию разделения фаз. Полученную таким образом газообразную фазу (линия 13) можно направить на дополнительную обработку, чтобы облагородить ее углеводородный компонент в качестве горючего газа.

Смесь (маслянистая фаза + водная фаза), полученную после термической обработки, охлаждают путем пропускания ее через теплообменники (не показаны на чертеже) и направляют (линия 12) в секцию разделения фаз, чтобы разделить и выделить две фазы, с получением бионефти и водной фазы.

Бионефть (линия 14) можно направить на последующие стадии обработки для преобразования ее, например, в биотопливо посредством, например, гидрирования или крекинга (не показано на чертеже).

Как показано на чертеже, водную фазу (линия 15) направляют на обезвреживающую обработку и впоследствии направляют рециклом, после возможного охлаждения в теплообменнике (не показано на чертеже), на сбраживание (линия 16).

Некоторые иллюстративные и неограничивающие примеры представлены ниже для лучшего понимания настоящего изобретения и его воплощений.

Пример.

Кислотный гидролиз биомассы.

300 г древесины хвойных пород, предварительно измельченной в мельнице (диаметр частиц <1 мм), добавляли к раствору 20 г 2-нафталинсульфоновой кислоты в 1 л воды.

Исходная биомасса имела следующий состав: 50 мас.% целлюлозы, 25 мас.% гемицеллюлозы, 25 мас.% лигнина, относительно общей массы исходной биомассы.

Полученную таким образом реакцию смесь выдерживали при перемешивании в автоклаве при 140°C в течение 1 ч, получая первую смесь, содержащую 225 г (сухая масса) первой твердой фазы (включающей ксилозу, полученную в результате гидролиза гемицеллюлозы, и 2-нафталинсульфоновую кислоту).

После охлаждения до 25°C указанную первую смесь подвергали экстракции смесью толуола и н-бутанола в количестве 1 л.

Смесь толуола и н-бутанола впоследствии отделяли и выпаривали при пониженном давлении, получая дополнительную твердую фазу, содержащую 19,6 г (сухая масса) 2-нафталинсульфоновой кислоты (возвратный выход 98%, рассчитанный относительно общего количества кислоты, присутствующего в водном растворе).

После отделения кислоты к указанной первой смеси добавляли ледяную уксусную кислоту до достижения значения pH указанной первой водной фазы, равного 5.

Впоследствии добавляли водный раствор фермента Celluclast 1.5L (новозимы), соответствующего 1485 ЕФП (единицы активности фильтровальной бумаги) и фермента Novozym 188 (из новозимов), соответствующего 18000 ЕБГ (единицы активности бета-глюконазы). Полученную таким образом суспензию выдерживали при перемешивании в течение 72 ч при 45°C.

По окончании ферментативного гидролиза 90 г (сухая масса) второй твердой фазы, содержащей лигнин (75 г - сухая масса) и негидролизованную целлюлозу (15 г - сухая масса), и 1200 г второй водной фазы, содержащей глюкозу (152 г - сухая масса) и ксилозу (75 г - сухая масса), разделяли путем фильтрации.

Сбраживание.

250 мл указанной водной фазы, полученной, как описано выше, содержащей 200 г/л сахаров, подходящим образом разбавляли дистиллированной водой до получения раствора с конечной концентрацией сахаров, составляющей 50 г/л.

К этому раствору добавляли следующие питательные вещества: 0,1% сульфата аммония, 0,1% K_2HPO_4 , 0,005% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,001% NaCl , 0,001% CaCl_2 , 0,1% экстракта дрожжей. Полученный таким образом ферментативный бульон (культурную среду) вводили в качестве закваски в бродильный аппарат с дрожжевыми клетками (*Lipomyces starkey* NRRL 1389) (количество закваски составляло 2,5 г/л - сухая масса) для объема сбраживания, составляющего 1 л, и pH поддерживали при 5,5 путем добавления 0,1 М водного раствора NaOH .

Дрожжевые клетки выращивали при перемешивании со скоростью 500 об/мин при 30°C, при аэрации 0,5 л/мин стерильного воздуха.

В бродильный аппарат добавляли дополнительно 250 мл указанной второй водной фазы, полученной в результате гидролиза биомассы, содержащей 200 г/л сахаров, подходящим образом разбавленной дистиллированной водой с получением раствора, имеющего конечную концентрацию сахаров, составляющую 50 г/л.

Термическая обработка.

Полученную водную суспензию объемом примерно 1,25 л, содержащую 52 г дрожжевых клеток, сгущали путем центрифугирования при 7000 об/мин в течение 20 мин, получая 0,25 л суспензии, содержащей 20% (сухая масса) дрожжевых клеток, которую помещали в стальной автоклав емкостью 0,5 л.

В автоклаве обеспечивали атмосферу азота и внутреннюю температуру быстро поднимали до 315°C; всю смесь выдерживали при перемешивании при указанной температуре в течение 1 ч. Максимальное давление, зарегистрированное в автоклаве, составляло 11 МПа.

Затем автоклав быстро доводили до температуры 70°C и сбрасывали давление для удаления образовавшейся газообразной фазы. Указанную газообразную фазу массой примерно 6,2 г анализировали с помощью газовой хроматографии на линии и было обнаружено, что она содержит 90 мол.% диоксида углерода.

Оставшуюся смесь (маслянистая фаза + водная фаза) загружали в разделительную воронку и экстрагировали метилхлоридом, получая маслянистую фазу и третью водную фазу.

Указанную маслянистую фазу сушили на сульфате натрия и затем выпаривали при пониженном давлении для удаления метилхлорида, получая примерно 35 г бионефти (выход по сухим дрожжевым клеткам составлял 67,3%). Указанную водную фазу, имеющую общую ХПК (химическая потребность в кислороде), составляющую 43200 мг/л, направляли рециклом на сбраживание.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения бионефти из биомассы, содержащей по меньшей мере один полисахарид, включающий

проведение кислотного гидролиза биомассы в присутствии водного раствора по меньшей мере одной органической кислоты, выбранной из алкил- или арилсульфоновых кислот, содержащих от 7 до 20 атомов углерода, или из галогенированных карбоновых кислот, при температуре от 80 до 160°C, с получением первой смеси, содержащей первую твердую фазу и первую водную фазу;

проведение ферментативного гидролиза указанной первой смеси с получением второй смеси, содержащей вторую твердую фазу и вторую водную фазу;

проведение сбраживания указанной второй водной фазы в присутствии по меньшей мере одного вида жирных дрожжей с получением водной суспензии, содержащей клетки указанных жирных дрожжей;

проведение термической обработки водной суспензии с получением маслянистой фазы, содержащей бионефть, и третьей водной фазы.

2. Способ по п. 1, в котором полисахарид выбирают из целлюлозы, гемицеллюлозы или их смесей.

3. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором биомасса представляет собой лигно-целлюлозную биомассу.

4. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором биомасса присутствует в реакционной смеси в количестве от 5 до 40 мас.% относительно общей массы реакционной смеси.

5. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором алкил- или арилсульфоновые кислоты выбирают из додецилсульфоновой кислоты, п-толуолсульфоновой кислоты, 1-нафталинсульфоновой кислоты, 2-нафталинсульфоновой кислоты, 1,5-нафталиндисульфоновой кислоты или их смесей.

6. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором галогенированные карбоновые кислоты выбирают из кислот, содержащих не более 20 атомов углерода, таких как трифторуксусная кисло-

та, дихлоруксусная кислота, трихлоруксусная кислота, перфторкаприловая кислота или их смеси.

7. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором по меньшей мере одна органическая кислота присутствует в водном растворе в концентрации от 0,1 до 5 мас.% относительно общей массы водного раствора.

8. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором кислотный гидролиз выполняют в течение периода времени от 20 мин до 6 ч.

9. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором первую смесь подвергают экстракции органическим растворителем, нерастворимым в воде и выбранным из галогенированных углеводородов, таких как метиленхлорид, хлорбензол, дихлорбензол или их смеси; ароматических углеводородов, таких как толуол, ксилол или их смеси; C₄-C₆-алифатических спиртов, таких как н-бутанол, н-пентанол или их смеси.

10. Способ по любому из предшествующих пунктов, включающий направление рециклом по меньшей мере одной органической кислоты на кислотный гидролиз.

11. Способ по любому из предшествующих пунктов, включающий направление рециклом по меньшей мере одного органического растворителя, не растворимого в воде, на экстракцию.

12. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором сбраживание выполняют при температуре от 20 до 40°C.

13. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором сбраживание выполняют в течение периода времени от 3 до 10 суток.

14. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором сбраживание выполняют при pH от 4,5 до 6,5.

15. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором жирные дрожжи выбирают из *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula gracilis*, *Rhodotorula graminis*, *Lypomices starkeyi*, *Lypomices lipofer*, *Trigonopsis variabilis*, *Candida kefyg*, *Candida curvata*, *Candida lipolytica*, *Torulopsis sp.*, *Pichia stipitis*.

16. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором водную суспензию по окончании сбраживания направляют на сгущение, где концентрацию дрожжевых клеток доводят до значения от 5 до 50 мас.% относительно общей массы сухих веществ водной суспензии.

17. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором термическую обработку выполняют при температуре от 80 до 350°C.

18. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором термическую обработку выполняют при давлении от 0,1 до 25 МПа.

19. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором термическую обработку выполняют в течение периода времени, равного или более 1 мин.

20. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором термическую обработку выполняют в течение периода времени от 0,5 до 2 ч.

21. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором по окончании термической обработки полученную смесь (маслянистая фаза + водная фаза) охлаждают до температуры от 40 до 90°C перед подачей этой смеси в секцию разделения/извлечения следующих фаз: маслянистой фазы, содержащей бионефть, и третьей водной фазы.

22. Способ по п.21, в котором третью фазу направляют рециклом на сбраживание.

