

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6884695号
(P6884695)

(45) 発行日 令和3年6月9日 (2021. 6. 9)

(24) 登録日 令和3年5月14日 (2021. 5. 14)

(51) Int. Cl.	F I
C O 8 B 15/00 (2006. 01)	C O 8 B 15/00
C 1 2 P 19/02 (2006. 01)	C 1 2 P 19/02
C 1 2 P 19/12 (2006. 01)	C 1 2 P 19/12
C O 7 H 3/02 (2006. 01)	C O 7 H 3/02
C O 7 H 3/04 (2006. 01)	C O 7 H 3/04

請求項の数 26 (全 44 頁)

(21) 出願番号	特願2017-521265 (P2017-521265)	(73) 特許権者	517007345
(86) (22) 出願日	平成27年7月10日 (2015. 7. 10)		リーフ サイエンスーズ プロプライエタ
(65) 公表番号	特表2017-522440 (P2017-522440A)		リー リミテッド
(43) 公表日	平成29年8月10日 (2017. 8. 10)		LEAF SCIENCES PTY L
(86) 国際出願番号	PCT/AU2015/050390		TD
(87) 国際公開番号	W02016/004482		オーストラリア国 4 1 1 3 クイーンズ
(87) 国際公開日	平成28年1月14日 (2016. 1. 14)		ランド州 エイト マイル プレインズ
審査請求日	平成30年7月4日 (2018. 7. 4)		ブランドル ストリート 88
(31) 優先権主張番号	2014902667	(74) 代理人	100105957
(32) 優先日	平成26年7月10日 (2014. 7. 10)		弁理士 恩田 誠
(33) 優先権主張国・地域又は機関	オーストラリア (AU)	(74) 代理人	100068755
(31) 優先権主張番号	2014904984		弁理士 恩田 博宣
(32) 優先日	平成26年12月9日 (2014. 12. 9)	(74) 代理人	100142907
(33) 優先権主張国・地域又は機関	オーストラリア (AU)		弁理士 本田 淳

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 リグノセルロース系材料の加水分解方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) リグノセルロース系材料を、硫酸で処理するステップと；

(i i) ステップ (i) の前記リグノセルロース系材料をグリセロールを含有する薬剤で処理するステップであって、前記グリセロールは前記薬剤の 30～100 重量%の分量で用いられる、薬剤で処理するステップとを備え、
前記薬剤は前記リグノセルロース系材料の 25～200 重量%の分量で用いられ、前記薬剤は酸を含まないか、又は前記薬剤の 0.1 重量%未満の分量で酸を含有し、
前記ステップによって、部分的に加水分解したリグノセルロース系材料を製造する、部分的に加水分解したリグノセルロース系材料を製造する方法。

10

【請求項 2】

ステップ (i) が、前記リグノセルロース系材料の中、及び前記リグノセルロース系材料の上のうちの少なくとも一方に、前記硫酸を含浸するステップを含んでなる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記リグノセルロース系材料の 0.1 重量%～5 重量%の量の前記硫酸を用いる、請求項 1～2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4】

ステップ (i) が 20℃～99℃の温度で実行される、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 5】

ステップ (i) が 25℃～75℃の温度で実行される、請求項 1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

ステップ (i i) が 120℃～200℃の温度で実行される、請求項 1～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

ステップ (i i) が 160℃の温度で実行される、請求項 6に記載の方法。

【請求項 8】

ステップ (i) が 5分～30分の時間で実行される、請求項 1～7のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 9】

ステップ (i i) が 15分～60分の時間で実行される、請求項 1～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

ステップ (i i) が 30分の時間で実行される、請求項 9に記載の方法。

【請求項 11】

ステップ (i) が、前記硫酸による処理の後、ステップ (i i) の開始前に前記硫酸を少なくとも部分的に除去するために、前記リグノセルロース系材料に洗浄、排液、及び圧縮のうちの少なくとも1つを行うステップをさらに含んでなる、請求項 1～10のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 12】

発酵性糖の製造方法において、請求項 1～11のいずれか一項に記載の方法によって製造された部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を製造し、製造された部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を酵素的に加水分解して、発酵性糖を製造するステップを備える、発酵性糖の製造方法。

【請求項 13】

前記部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を酵素的に加水分解するステップが、その少なくとも一部において、前記部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を、セルラーゼ、リグニナーゼ、ヘミセルラーゼ、キシラナーゼ、リパーゼ、ペクチナーゼ、アミラーゼ、プロテイナーゼ及びそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される1種以上の酵素と接触させることによって実行される、請求項 12に記載の発酵性糖の製造方法。

30

【請求項 14】

前記発酵性糖が、グルコース、キシロース、アラビノース、ガラクトース、マンノース、ラムノース、スクロース、フルクトース及びそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される、請求項 12又は13に記載の発酵性糖の製造方法。

【請求項 15】

前記部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を酵素的に加水分解する前記ステップが、2%～30%の固体対液体比において実行される、請求項 12～14のいずれか一項に記載の発酵性糖の製造方法。

40

【請求項 16】

前記部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料が、低濃度の前記1種以上の酵素と接触させられる、請求項 13～15のいずれか一項に記載の発酵性糖の製造方法。

【請求項 17】

発酵生成物の製造方法において、請求項 12～16のいずれか一項に記載の発酵性糖の製造方法によって製造された発酵性糖を処理して、それにより前記発酵生成物を製造するステップを含む、発酵生成物の製造方法。

【請求項 18】

前記発酵生成物が、エタノール及びブタノールからなる群から選択される、請求項 17に

50

記載の発酵生成物の製造方法。

【請求項 19】

前記発酵生成物が、1種以上の微生物脂質であるか、又はそれを含んでなる、請求項 17 に記載の発酵生成物の製造方法。

【請求項 20】

リグノセルロース系材料を硫酸で処理するための処理チャンバーにおいて、前記リグノセルロース系材料を、グリセロールを含んでなるか、それからなるか、又はそれから本質的になる薬剤で処理するための消化チャンバーと連通している、処理チャンバーを含んでなり、前記グリセロールは前記薬剤の30～100重量%の分量で存在し、前記薬剤は前記リグノセルロース系材料の25～200重量%の分量で存在し、かつ、前記薬剤は酸を含まないか、又は前記薬剤の0.1重量%未満の分量で酸を含有する、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を製造する装置。

10

【請求項 21】

前記処理チャンバーが、前記リグノセルロース系材料に前記硫酸に含浸させることができる、請求項 20 に記載の装置。

【請求項 22】

前記リグノセルロース系材料を浸潤及び予熱のうちの少なくとも一方をするためなど、前記リグノセルロース系材料を蒸気処理することができる前処理チャンバーをさらに含んでなる、請求項 20 又は 21 に記載の装置。

20

【請求項 23】

液体フラクションから、前記部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料をその少なくとも一部において分離するための分離器をさらに含んでなる、請求項 20 ～ 22 のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 24】

前記部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を、それからの前記硫酸及びグリセロールのうちの少なくとも1つの少なくとも部分的な除去を促進するように洗浄することができる洗浄デバイスをさらに含んでなる、請求項 20 ～ 23 のいずれか一項に記載の装置。

【請求項 25】

前記洗浄デバイスが、前記部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料の連続向流洗浄を促進するために適合されたベルト真空フィルター又は歩行重力洗浄テーブルである、請求項 24 に記載の装置。

30

【請求項 26】

請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の方法において使用するための、請求項 20 ～ 25 のいずれか一項に記載の装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、後に発酵性糖などの有用な製品を製造するために使用することができる少なくとも部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を製造するための方法に関する。

40

【背景技術】

【0002】

リグノセルロース系材料は、とりわけ、バイオ燃料（例えば、バイオエタノール）及び生化学物質を製造するために使用することが可能であり、そのため、化石燃料の代替物である。リグノセルロース系材料からの効率的なバイオ燃料製造のために、リグノセルロース系材料のセルロース及び／又はヘミセルロース成分は、エタノール又はブタノールへと発酵させることができる単糖類（すなわち、単糖）に変換される必要がある。この分野における従来技術では、リグノセルロース系材料の天然構造を崩壊させるための化学的及び／又は物理的前処理と、それに続いて、セルロース及びヘミセルロース成分を単糖にさせる酵素加水分解を伴うリグノセルロース系材料からの発酵性糖の製造とのためのプロセス

50

が提案されている。単糖は、次いで、エタノールもしくはブタノール、ならびに／又は有機酸及び／もしくは他のアルコールなどの他の発酵生成物を含むバイオ燃料を製造するために、発酵させることができる。さらに、単糖は、例えば、大腸菌（*E. coli*）又は従属栄養性藻類（*heterotrophic algae*）からの微生物脂質など、他の有用な分子への微生物変換のための炭素源として使用することができる。しかしながら、これらのプロセスは、現時点で、高い費用、低い効率、不利な反応条件及び前処理プロセスに関連する他の問題のために商業化されていない。加えて、これらのプロセスは環境上好ましくなく、及び有効かつ効率的な加水分解を達成するために、酵素の大量添加が必要とされ、それによってさらに費用が増加する。

【発明の概要】

10

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

したがって、下流用途において発酵性糖を製造するために使用することができる部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を製造するための改善された方法が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明は、部分的には、リグノセルロース系材料を酸及び／又はアルカリ、次いでポリオール、特にグリセロールで連続的に処理することにより、酸及び／又はアルカリとポリオールとの両方を含んでなる溶液による単一ステッププロセスと比較して、リグノセルロース系材料のより効率的かつ改善された加水分解又は液化が得られるという驚くべき発見に基づくものである。

20

【0005】

第1の態様において、本発明は、

（i）リグノセルロース系材料を酸及び／又はアルカリで処理するステップと；

（ii）ステップ（i）のリグノセルロース系材料を、ポリオールを含んでなるか、それからなるか、又はそれから本質的になる薬剤で処理するステップと
を含み、それによって、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を製造する、少なくとも部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を製造する方法を提供する。

【0006】

30

特定の実施形態において、ステップ（i）において、リグノセルロース系材料は、（a）酸のみによって、（b）アルカリのみによって、（c）酸、及び次いでアルカリによって連続的に、又は（d）アルカリ、及び次いで酸によって連続的に処理される。

【0007】

適切には、酸は、硫酸、塩酸、リン酸、フッ化水素酸、臭化水素酸、硝酸、酸金属塩及びそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される。

好適には、酸は硫酸である。

【0008】

適切には、アルカリは、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、アルカリ金属塩及びそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される。

40

好適には、アルカリは水酸化ナトリウムである。

【0009】

好適な実施形態において、ステップ（i）は、リグノセルロース系材料中に、及び／又はリグノセルロース系材料上に、酸及び／又はアルカリを蒸気含浸するステップを含む。

好適な実施形態において、酸は、リグノセルロース系材料の約0.1重量％～約5重量％の量で存在する。

【0010】

好適な実施形態において、アルカリは、リグノセルロース系材料の約0.1重量％～約15重量％の量で存在する。

適切には、ポリオールは、グリセロール、エチレングリコール及びそれらのいずれかの

50

組合せからなる群から選択される。

【0011】

好適には、ポリオールはグリセロールである。

一実施形態において、グリセロールは、粗製グリセロールであるか、又はそれを含んでなる。

【0012】

適切には、ステップ(i)は、約20℃～約99℃、又は好適には、約25℃～約75℃の温度で実行される。

適切には、ステップ(ii)は、約120℃～約200℃の温度で実行される。

【0013】

好適には、ステップ(ii)は、約160℃の温度で実行される。

適切には、ステップ(i)は、約5分～約30分の時間で実行される。

適切には、ステップ(ii)は、約15分～約60分の時間で実行される。

【0014】

好適には、ステップ(ii)は、約30分の時間で実行される。

特定の実施形態において、ステップ(i)は、酸及び／又はアルカリによる処理の後、ステップ(ii)の開始前に酸及び／又はアルカリを少なくとも部分的に除去するために、リグノセルロース系材料を洗浄、排液、及び／又は圧縮するステップをさらに含んでなる。

【0015】

適切には、ポリオールは、リグノセルロース系材料の約10重量%～約200重量%の量で存在する。

第2の態様において、本発明は、第1の態様の方法によって製造された部分的に加水分解したリグノセルロース系材料を提供する。

【0016】

第3の態様において、本発明は、発酵性糖を製造する方法であって、第1の態様によって製造された部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を酵素的に加水分解して、発酵性糖を製造するステップを含む、方法を提供する。

【0017】

好適には、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を酵素的に加水分解するステップは、その少なくとも一部において、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を、セルラーゼ、リグニナーゼ、ヘミセルラーゼ、キシラナーゼ、リパーゼ、ペクチナーゼ、アミラーゼ、プロテイナーゼ及びそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される1種以上の酵素と接触させることによって実行される。

【0018】

第4の態様において、本発明は、第3の態様の方法によって製造された発酵性糖を提供する。

好適には、第3及び第4の態様によれば、発酵性糖は、グルコース、キシロース、アラビノース、ガラクトース、マンノース、ラムノース、スクロース、フルクトース及びそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される。

【0019】

一実施形態において、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を酵素的に加水分解するステップは、約2%～約30%の固体対液体比において実行される。

特定の実施形態において、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料は、低濃度の1種以上の酵素と接触させられる。

【0020】

第5の態様において、本発明は、発酵生成物を製造する方法であって、第3の態様によって製造された発酵性糖を処理して、それにより発酵生成物を製造するステップを含む、方法を提供する。

【0021】

10

20

30

40

50

第6の態様において、本発明は、第5の態様の方法によって製造された発酵生成物を提供する。

好適には、第5及び第6の態様によれば、発酵生成物は、エタノール及びブタノールからなる群から選択される。

【0022】

第7の態様において、本発明は、リグノセルロース系材料を酸及び／又はアルカリで処理するための処理チャンバーであって、リグノセルロース系材料を、ポリオールを含んでなるか、それからなるか、又はそれから本質的になる薬剤で処理するための消化チャンバーと連通している、処理チャンバーを含んでなる、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を製造する装置を提供する。

10

【0023】

適切には、処理チャンバーは、リグノセルロース系材料を酸及び／又はアルカリで含浸させることができる。

特定の実施形態において、この装置は、リグノセルロース系材料を浸潤及び／又は予熱するためなど、リグノセルロース系材料を蒸気処理することができる前処理チャンバーをさらに含んでなる。

【0024】

いくつかの実施形態において、この装置は、液体フラクションから、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料をその少なくとも一部において分離するための分離器をさらに含んでなる。

20

【0025】

特定の実施形態において、この装置は、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を、それからの酸、アルカリ及び／又はポリオールの少なくとも部分的な除去を促進するように洗浄することができる洗浄デバイスをさらに含んでなる。好適には、洗浄デバイスは、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料の連続向流洗浄を促進するために適合されたベルト真空フィルター又は歩行重力洗浄テーブルである。

【0026】

適切には、この装置は、第1の態様の方法における使用に適切である。

本明細書を通して、他に明記されない限り、「含んでなる (comprise)」、「含んでなる、からなる (comprises 及び comprising)」は、排他的ではなく包括的に使用され、そのため、明記された整数又は整数の群は、1つ以上の他の明記されていない整数又は整数の群を含む。「から本質的になる」という句は、明記された整数又は整数の群が必要とされるか、又は義務的であるが、明記された整数又は整数の群の活性又は作用を妨害しないか、又はそれに寄与しない他の要素が任意であることを示す。

30

【0027】

不定冠詞「1つの (a)」及び「1つの (an)」は、単数不定冠詞として解釈されず、又は2つ以上もしくは不定冠詞が指す単一の主題より多くを排除するものとして解釈されない。例えば、「1つの」タンパク質は、1種のタンパク質、1種以上のタンパク質又は複数のタンパク質を含む。

40

【0028】

例としてのみ、添付の図面を参照にして、以下に本発明の実施形態をより詳細に記載する。

【図面の簡単な説明】

【0029】

【図1】本発明の好適な実施形態による装置の概略図である。

【図2】本発明の好適な実施形態による洗浄デバイスの概略図である。

【図3】ユーカリ木片の酸含浸及び消化前のアルカリ脱アセチルを含む、実施例3の前処理方法を概説する。

【図4-1】ユーカリ木片の酸含浸及び消化前のアルカリ脱アセチルを含む、実施例3の

50

前処理方法を概説する。

【図4-2】ユーカリ木片の酸含浸及び消化前のアルカリ脱アセチルを含む、実施例3の前処理方法を概説する。

【図5】アルカリ脱アセチルを含む前処理方法の種々のステップ後の実施例3からのユーカリ木片の像を提供する。

【図6】(A) ピキア・ホルスティ (*Pichia holstii*)、(B) 出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 及び (C) 大腸菌 (*Escherichia coli*) による発酵に関して、それぞれ以下に示されるグルコース濃度減少及び対応する細胞密度増加を実証する。

【発明を実施するための形態】

10

【0030】

本発明は、部分的には、発酵性糖及び最終生化学物質を製造するために下流用途において使用され得る、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を製造する新規方法の特定から生じる。特に、これらの新規方法では、さらなる液化又は加水分解のために実証可能である、改善された部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料が提供される。さらに、本明細書に記載される方法は、典型的に、より低い資本及び運転費用を有し、かつ当該技術分野において以前に記載された方法より効率的である。

【0031】

本明細書に開示されるプロセスは、より多くの糖を迅速に製造する能力を提供し、これは、次いで未加工の再生可能なバイオベース製品の製造のベースとして使用することができる糖へとバイオマスを変換する経済的側面のために重要である。本明細書に開示されたプロセスは、有意な消化時間を節約することができ、かつ達成された結果に基づき、最大糖類をより迅速に製造することができる。これらの結果は、プロセスの経済的利益を有意に増加させる。プロセスの重要な特徴としては、単段連続プロセス、短いレゾナンス時間、低い温度及び低い圧力、低費用のリサイクル可能な薬剤、高消化性炭水化物流、拡大縮小可能であり、かつ有効な処理の実行、ならびに非木質及び木質工業原料の両方が含まれる。例えば、本明細書に開示されたプロセスは、サトウキビバガスから6時間で理論的収率の99%及びユーカリノキ (*Eucalyptus globulus*) から24時間で理論的収率の98%のグルコースを製造することができる。フルフラール及びHMFなどの無視できる分解生成物が製造される。

20

30

【0032】

一態様において、本発明は、

(i) リグノセルロース系材料を酸及び／又はアルカリで処理するステップと；

(ii) ステップ(i)のリグノセルロース系材料を、ポリオールを含んでなるか、それからなるか、又はそれから本質的になる薬剤で処理するステップとを含み、それによって、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を製造する、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を製造する方法を提供する。

【0033】

「リグノセルロース系」又は「リグノセルロース」という用語は、本明細書で 사용되는場合、リグニン及び／又はセルロースを含んでなる材料を意味する。リグノセルロース系材料は、ヘミセルロース、キシラン、タンパク質、脂質、炭水化物、例えば、デンプン及び／もしくは糖、又はそれらのいずれかの組合せなども含んでなることができる。リグノセルロース系材料は、生きている植物又は以前に生きていた植物材料（例えば、リグノセルロース系バイオマス）から誘導することができる。「バイオマス」は、本明細書で 사용되는場合、いずれのリグノセルロース系材料も意味し、エネルギー源として使用することができる。

40

【0034】

リグノセルロース系材料（例えば、リグノセルロース系バイオマス）は、単一材料又は材料の組合せから誘導可能であり、かつ／又は未変性及び／もしくは変性可能である。リグノセルロース系材料は、トランスジェニック（すなわち、遺伝子組換え型）であること

50

ができる。リグノセルロースは、一般に、例えば、植物の繊維、パルプ、茎（stems）、葉、外皮（hulls）、茎（canes）、外皮（husks）及び／もしくは穂軸（cobs）、又は木もしくは低木の繊維、葉、枝、樹皮及び／もしくは木質において見出される。リグノセルロース系材料の例としては、限定されないが、農業バイオマス、例えば、農業及び／又は林業材料及び／又は残渣、枝、低木、茎、森林、穀物、草、短期輪作木質作物、草質茎作物及び／又は葉物；果物を取り出した後の房やヤシの幹などのヤシ油繊維残渣；柳やユーカリのコピス（萌芽更新）；エネルギー作物、例えば、トウモロコシ、キビ及び／又は大豆；エネルギー作物残渣；ペーパーミル残渣；製材所残渣；地方自治体の紙廃物；果樹園剪定；低木の茂み；木屑；木片、伐採廃棄物；森林間引；短期輪作木質作物；サトウキビバガス及び／又はモロコシバガスなどのバガス、ウキクサ；小麦わら；オート麦わら；米わら；大麦わら；ライ麦わら；生茎；大豆殻；もみ殻；米わら；タバコ；トウモロコシグルテン供給物；オート麦殻；トウモロコシカーネル；カーネルからの繊維；トウモロコシわら；トウモロコシ茎；トウモロコシ穂軸；トウモロコシ外皮；キャノーラ；ススキ；エネルギー茎；大草原の草；ガマグラス；フォックステール；サトウダイコンパルプ；柑橘系果物のパルプ；種子外皮；芝生刈り込み；綿、海草；木；灌木；小麦；小麦わら；穀物の湿潤又は乾燥ミルからの製品又は副産物；草木ゴミ；植物及び／又は木廃棄物；草質茎材料及び／又は作物；森林；果物；花；針状葉；丸太；根；苗木；灌木；スイッチグラス；野菜；果物皮；つる；小麦ミドリリング；オート麦外皮；硬質及び軟質木材；あるいはそれらのいずれかの組合せが含まれる。

10

【0035】

20

本発明に関して、リグノセルロース系材料は、乾燥粉碎エタノール製造設備、紙パルプ化設備、木伐採事業、サトウキビ工場又はそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される加工業者によって処理されてよい。

【0036】

いくつかの実施形態において、リグノセルロース系材料は、バガスである。

さらなる実施形態において、リグノセルロース系材料は、好適にはユーカリノキ（*Eucalyptus globulus*）、トウヒ（*Spruce spp*）、アフリカアブラヤシ（*Elaeis guineensis*）、又はこれらの組み合わせからの木片、材料及び／又は残渣を含んでなる。

【0037】

30

「加水分解」は、リグノセルロース系材料と一緒に保持する化学結合の分裂又は切断を意味する。例えば、加水分離には、限定されないが、糖類（すなわち、糖）と一緒に連結するグリコシド結合の切断又は分裂が含まれ、これは糖化としても知られている。リグノセルロース系材料は、いくつかの実施形態において、セルロース及び／又はヘミセルロースを含んでなることができる。セルロースは、多糖類のグルカンである。多糖類は、グリコシド結合によって一緒に連結された糖類（例えば、単糖類又は二糖類）の繰り返し単位から構成される重合体化合物である。糖類の繰り返し単位は、同一であり（すなわち均質であり）、ホモ多糖類が得られることが可能であるか、又は異なり（すなわち不均質であり）、ヘテロ多糖類が得られることが可能である。セルロースは加水分解を受けて、セロデキストリン（すなわち、加水分離反応前の多糖体単位と比較して、より短い多糖類単位）及び／又はグルコース（すなわち、単糖類）を形成することができる。ヘミセルロースはヘテロ多糖類であり、限定されないが、キシラン、グルクロノキシラン、アラビノキシラン、グルコマンナン及びキシログルカンを含む多糖類を含むことができる。ヘミセルロースは加水分解を受けて、より短い多糖類単位及び／又は単糖類を形成することができ、これらとしては、限定されないが、キシロース、マンノース、グルコース、ガラクトース、ラムノース、アラビノース又はそれらのいずれかの組合せが含まれる。

40

【0038】

好適には、本発明の方法は、リグノセルロース系材料を部分的に加水分解する。「部分的な加水分解」又は「部分的加水分解」及びそれらのいずれかの文法的な変形は、本明細書で使用される場合、リグノセルロース系材料と一緒に保持する化学結合の100%未満

50

を分裂又は切断する加水分解反応を意味する。

【0039】

本発明の他の実施形態において、加水分解反応は、リグノセルロース系材料に存在するセルロース及び／又はヘミセルロースのグリコシド結合の100%未満を分裂又は切断する。いくつかの実施形態において、部分的な加水分解反応は、セルロースの約20%、15%、10%又は5%をグルコースへと変換することができる。本発明のさらなる実施形態において、部分的な加水分解反応は、ヘミセルロースの約20%、15%、10%又は5%を単糖類へと変換することができる。単糖類の例としては、限定されないが、キシロース、グルコース、マンノース、ガラクトース、ラムノース及びアラビノースが含まれる。加えて、部分的な加水分解反応は、本明細書に記載の方法で処理される前のリグノセルロース系材料に存在するグルカンの量と比較して、部分的に加水分解したリグノセルロース系材料に存在するグルカンの約80%、85%、90%又は95%より多い回収をもたらし得る。

10

【0040】

本発明のいくつかの実施形態において、部分的な加水分解反応は、本明細書に記載の方法で処理される前のリグノセルロース系材料に存在するキシランの量と比較して、部分的に加水分解したリグノセルロース系材料に存在するキシランの約40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%又は5%より多い回収をもたらすことができる。さらに、部分的な加水分解反応は、リグノセルロース系材料に存在するヘミセルロース中のウロン酸モノマーのアセチル化物からアセテートを除去することができる。

20

【0041】

当業者によって容易に理解されるであろう通り、本明細書に記載される方法は、リグノセルロース系材料に存在するリグニンを分解及び／又は除去し得る。リグニンは、リグノセルロース系材料と一緒に保持する化学結合の加水分解によって、リグノセルロース系材料から除去され得る。したがって、本発明のいくつかの実施形態において、この方法によって、本方法で処理される前のリグノセルロース系材料に存在するリグニンの量と比較して、部分的に加水分解したリグノセルロース系材料中のリグニンの約80%以下（例えば、約80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%など）又はそのうちのいずれかの範囲の除去がもたらされる。いくつかの実施形態において、この方法によって、本態様の方法で処理される前のリグノセルロース系材料に存在するリグニンの量と比較して、処理したリグノセルロース系材料中のリグニンの約20%以上（例えば、約20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%など）又はそのうちのいずれかの範囲の除去がもたらされる。

30

【0042】

さらに、本明細書に記載の方法は、リグノセルロース系材料の構造に影響を及ぼし得る。例えば、この方法は、リグノセルロース系材料中の繊維の分離をもたらし得、リグノセルロース系材料の気孔率を増加し得、リグノセルロース系材料の比表面積を増加し得、又はそれらのいずれかの組合せが生じ得る。いくつかの実施形態において、この方法は、例えば、結晶状態から非晶状態へとセルロースの一部を変換することによって、セルロース構造の結晶度を低下させる。

40

【0043】

本明細書で使用される場合、「処理する」又は「処理」は、例えば、接触、浸漬、蒸気含浸、噴霧、懸濁、含浸、飽和、ディップ、湿潤、リンス、洗浄、沈没及び／又はそれらのいずれかの変形及び／又は組合せを意味し得る。

【0044】

適切には、ステップ(i)に関して、リグノセルロース系材料は酸で処理される。

当業者は、本明細書で使用される場合、「酸」という用語が、アルカリと反応して塩を形成することができる7未満のpHを有する様々な水溶性化合物を意味することを容易に理解するであろう。酸の例は、一プロトン性又は多プロトン性であることが可能であり、

50

かつ1個、2個、3個又はそれを超える官能基を含んでなることができる。酸の例としては、限定されないが、鉱酸、ルイス酸、酸金属塩、有機酸、固体酸、無機酸又はそれらの組合せが含まれる。特定の酸としては、限定されないが、塩酸、硫酸、リン酸、フッ化水素酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硝酸、ギ酸、酢酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、三フッ化ホウ素ジエチルエーテレート、スカンジウム（Ⅲ）トリフルオロメタンスルホネート、チタン（Ⅳ）イソプロポキシド、塩化スズ（Ⅳ）、臭化亜鉛（Ⅱ）、塩化鉄（Ⅱ）、塩化鉄（Ⅲ）、塩化亜鉛（Ⅱ）、塩化銅（Ⅰ）、臭化銅（Ⅰ）、塩化銅（Ⅱ）、臭化銅（Ⅲ）、塩化アルミニウム、塩化クロム（Ⅲ）、塩化クロム（Ⅳ）、塩化バナジウム（Ⅲ）、塩化モリブデン（Ⅲ）、塩化パラジウム（Ⅱ）、塩化プラチナ（Ⅱ）、塩化プラチナ（Ⅳ）、塩化ルテニウム（Ⅲ）、塩化ロジウム（Ⅲ）、ゼオライト、活性化ゼオライト又はそれらのいずれかの組合せが含まれる。

10

【0045】

好適には、酸は、硫酸、塩酸、リン酸、フッ化水素酸、臭化水素酸、硝酸、酸金属塩及びそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される。

さらにいっそう好適には、酸は硫酸である。

【0046】

適切には、ステップ（i）に関して、リグノセルロース系材料はアルカリ処理される。

当業者によって容易に理解されるであろう通り、本明細書で使用される場合、「アルカリ」は、酸と反応して塩を形成することができる7より高いpHを有する様々な水溶性化合物を意味する。例として、アルカリには、限定されないが、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化マグネシウム及びアルカリ金属塩、例えば、限定されないが、炭酸ナトリウム及び炭酸カリウムが含まれる。

20

【0047】

好適には、アルカリは、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、アルカリ金属塩及びそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される。

さらにいっそう好適には、アルカリは水酸化ナトリウムである。

【0048】

特定の一実施形態において、ステップ（i）は、リグノセルロース系材料を、酸、及び次いでアルカリによって連続的に、又はアルカリ、及び次いで酸によって連続的に、処理される。

30

【0049】

特に好適な実施形態において、ステップ（i）は、リグノセルロース系材料中に、及び／又はリグノセルロース系材料上に、酸及び／又はアルカリを蒸気含浸するステップを含む。いくつかの実施形態において、リグノセルロース系材料は、最初に、酸及び／又はアルカリを含浸するステップの前に、それが蒸気によって湿潤及び予熱されるように、事前に蒸気で処理される。この点に関して、事前に蒸気で処理するステップによって、典型的に、木片中の毛管などのリグノセルロース系材料中の空洞を生じ、これには少なくとも部分的に液体が満たされる。蒸気処理は、さらに、リグノセルロース系材料中の空気を膨張させて、かつ少なくとも部分的にそれから排出させ得る。事前に蒸気処理されたリグノセルロース系材料のその後の蒸気含浸によって、次いで、リグノセルロース系材料の空洞内の液体が酸及び／又はアルカリによって置き換えられるという結果がもたらされ得る。あるいは、酸及び／又はアルカリの含浸は、最初にリグノセルロース系材料を事前に蒸気処理することなく実行されてもよい。

40

【0050】

ステップ（i）はリグノセルロース材料を酸及び／又はアルカリ浴の通過から単純になるということを当業者は把握することができる。他の実施形態では、ステップ（i）はリグノセルロース材料を、バッチ容器を通過させることからなり、バッチ容器は酸及び／又はアルカリを再生させる。

【0051】

50

他の実施形態において、リグノセルロース系材料は、ステップ（i）で1種以上の酸及び／又はアルカリで処理されてもよい。例えば、リグノセルロース系材料は、1種、2種、3種、4種、5種又はそれを超える酸及び／又はアルカリで処理されてもよい。

【0052】

ステップ（i）に関して、酸は、リグノセルロース系材料の約0.1重量％～5重量％又はそのうちのいずれかの範囲、例えば、限定されないが、約0.3重量％～約3重量％、又は約0.5重量％～約1重量％の量で存在し得る。本発明の特定の実施形態において、酸及び／又はアルカリは、ステップ（i）において、リグノセルロース系材料の約0.1重量％、0.2重量％、0.3重量％、0.4重量％、0.5重量％、0.6重量％、0.7重量％、0.8重量％、0.9重量％、1重量％、1.2重量％、1.5重量％、1.75重量％、2重量％、2.25重量％、2.5重量％、2.75重量％、3重量％、3.25重量％、3.5重量％、3.75重量％、4重量％、4.25重量％、4.5重量％、4.75重量％、5重量％又はそのうちのいずれかの範囲の量で存在する。本発明の特定の実施形態において、酸及び／又はアルカリは、ステップ（i）において、リグノセルロース系材料の約0.5重量％～約2重量％の量で存在する。

10

【0053】

ステップ（i）に関して、アルカリは、リグノセルロース系材料の約0.1重量％～約15重量％又はそのうちのいずれかの範囲、例えば、限定されないが、約0.3重量％～約13重量％、又は約1重量％～約10重量％の量で存在し得る。本発明の特定の実施形態において、酸及び／又はアルカリは、ステップ（i）において、リグノセルロース系材料の約0.1重量％、0.2重量％、0.3重量％、0.4重量％、0.5重量％、0.6重量％、0.7重量％、0.8重量％、0.9重量％、1重量％、1.2重量％、1.5重量％、1.75重量％、2重量％、2.25重量％、2.5重量％、2.75重量％、3重量％、3.25重量％、3.5重量％、3.75重量％、4重量％、4.25重量％、4.5重量％、4.75重量％、5重量％、5.25重量％、5.5重量％、5.75重量％、6重量％、6.25重量％、6.5重量％、6.75重量％、7重量％、7.25重量％、7.5重量％、7.75重量％、8重量％、8.25重量％、8.5重量％、8.75重量％、9重量％、9.25重量％、9.5重量％、9.75重量％、10重量％、10.25重量％、10.5重量％、10.75重量％、11重量％、11.25重量％、11.5重量％、11.75重量％、12重量％、12.25重量％、12.5重量％、12.75重量％、13重量％、13.25重量％、13.5重量％、13.75重量％、14重量％、14.25重量％、14.5重量％、14.75重量％、15重量％又はそのうちのいずれかの範囲の量で存在する。本発明の特定の実施形態において、アルカリは、ステップ（i）において、リグノセルロース系材料の約5重量％～約15重量％の量で存在する。

20

30

【0054】

当業者には明らかであるように、この実施形態の方法に係る1つ以上のステップ、又はステップの部分は、加圧して実施することができる。一例として、本発明の方法に係る1つ以上のステップ、又はステップの部分は、約20psi～約100psiのうちのいかなる範囲、例えば、約25psi～約75psi、又は約40psi～約60psiなど、しかしこれらに限定されない範囲の圧力で実施することができる。本発明の特定の実施形態において、1つ以上のステップ、又はステップの部分は、20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100psi又はこのうちのいかなる範囲の圧力で行うことができる。一実施形態において、ステップ（i）、又はその一部は、約25psiの圧力で行う。一実施形態において、ステップ（ii）、又は

40

50

その一部は、約75 psiの圧力で行う。

【0055】

特定の実施形態において、ステップ(i)は、酸及び／又はアルカリを少なくとも部分的に除去するために、酸及び／又はアルカリによる処理の後、リグノセルロース系材料を洗浄するステップ、例えば、(a)酸又はアルカリでの連続したさらなる処理、又は、(b)ステップ(ii)の開始を、さらに含んでなる。好適な一実施形態において、ステップ(i)において、リグノセルロース材料はアルカリ、次いで酸によって連続的に処理され、ここでステップ(i)は、アルカリでの処理の後、かつ酸での処理の前にリグノセルロース材料を洗浄することを含んでなる。他の好適な実施形態において、ステップ(i)では、リグノセルロース材料は、酸、次いでアルカリで連続処理され、ステップ(i)は、酸での処理の後、かつアルカリでの処理の前にリグノセルロース材料を洗浄することを含んでなる。

10

【0056】

この点に関して、洗浄は、洗浄溶液及び／又は水で実行されてよい。リグノセルロース系材料は、1回以上、例えば、2回、3回、4回又はそれを超える回数にわたって水及び／又は洗浄溶液で洗浄されてよい。好適には、リグノセルロース系材料がステップ(i)において酸で処理された場合、それは次いで、アルカリ性洗浄溶液（すなわち、pHが7より高いもの）及び／又は水でその後洗浄される。好適には、リグノセルロース系材料がステップ(i)においてアルカリで処理された場合、それは次いで、酸性洗浄溶液（すなわち、pHが7より低いもの）及び／又は水でその後洗浄される。加えて、リグノセルロース系材料は、ステップ(i)において酸及び／又はアルカリで処理された後、1回以上にわたって水で洗浄されてもよく、次いで、リグノセルロース系材料は、それぞれ、アルカリ性又は酸性洗浄溶液で1回以上洗浄され、続いて任意選択的に、リグノセルロース系材料を水で1回以上にわたって再度洗浄する。1回以上の水及び／又は洗浄溶液による洗浄の後、本明細書に記載の方法のステップ(ii)において薬剤で処理する前に、限定されないが、真空ろ過、膜ろ過、ふるいろ過、部分的もしくは粗ろ過、又はそれらのいずれかの組合せなどの方法によって、リグノセルロース系材料を水及び／又は洗浄溶液から分離することができる。

20

【0057】

「ポリオール」という用語は、本明細書で使用される場合、複数のヒドロキシル基を含有するアルコールを意味する。本発明のポリオールの例としては、限定されないが、1, 2-プロパンジオール、1, 3-プロパンジオール、グリセロール、2, 3-ブタンジオール、1, 3-ブタンジオール、2-メチル-1, 3-プロパンジオール、1, 2-ペンタンジオール、1, 3-ペンタンジオール、1, 4-ペンタンジオール、1, 5-ペンタンジオール、2, 2-ジメチル-1, 3-プロパンジオール、2-メチル-1, 4-ブタンジオール、2-メチル-1, 3-ブタンジオール、1, 1, 1-トリメチルメタン、3-メチル-1, 5-ペンタンジオール、1, 1, 1-トリメチロールプロパン、1, 7-ヘプタンジオール、2-エチル-1, 6-ヘキサンジオール、1, 9-ノナンジオール、1, 11-ウンデカンジオール、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール、オリゴエチレングリコール、2, 2'-チオジグリコール、1, 2-プロピレンオキシドから調製したジグリコール又はポリグリコール、プロピレングリコール、エチレングリコール、ソルビトール、ジブチレングリコール、トリブチレングリコール、テトラブチレングリコール、ジヘキシレンエーテルグリコール、トリヘキシレンエーテルグリコール、テトラヘキシレンエーテルグリコール、1, 4-シクロヘキサンジオール、1, 3-シクロヘキサンジオール、又はそれらのいずれかの組合せが含まれる。

30

40

【0058】

好適には、ポリオールは、グリセロール、エチレングリコール及びそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される。

さらにいっそう好適には、ポリオールはグリセロールである。

【0059】

50

ポリオールは、純粋（例えば、精製されたか、又は技術グレード）、又は不純（例えば、粗製又は精製粗製）の形態で存在することができる。本発明の特定の実施形態において、ポリオールは、約 70 %～約 99.9 % 又はそのうちのいずれかの範囲、例えば、限定されないが、約 80 %～約 99.9 % 又は約 80 %～約 97 % の純度を有する。本発明の特定の実施形態において、ポリオールの純度は、約 70 %、71 %、72 %、73 %、74 %、75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、99.1 %、99.2 %、99.3 %、99.4 %、99.5 %、99.6 %、99.7 %、99.8 %、99.9 % 又はそのうちのいずれかの範囲である。ポリオールの純度形態又はグレード（例えば、精製、粗製又は精製粗製）は、限定されないが、バイオディーゼル製造プロセスからの副産物として製造された純度グレードであり得る。本発明の特定の実施形態において、ポリオールは、純粋形態（例えば、99 % 以上の純度を有する）又は粗製形態（例えば、約 70 %～約 98 % の純度を有する）である。

【0060】

さらなる実施形態において、ポリオールは、本明細書に記載したようなリグノセルロース材料をとポリオールの混合物から回収又は再生されてきた。これに関して、回収又は再生したポリオールは、部分的に精製、又は純化した形態にあることが可能である。この目的のために、ポリオールは、リグノセルロース材料をとポリオールの混合物から、当業者に公知のあらゆる方法又は手段によって、回収又は再生することができる。部分的に精製したポリオールの回収方法には、汚染源を除去するための、ろ過、クロマトグラフィ分離、抽出、蒸発、吸着などの方法、例えば、活性炭素又は珪藻土又は他の吸着材料を含んだカラムを通すろ過、あるいはこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。好適にはポリオールは、ろ過、クロマトグラフィ分離、及び／又は蒸発によって回収又はリサイクルされる。

【0061】

一実施形態において、グリセロールは、粗製グリセロールであるか、又はそれを含んでなる。粗製グリセロールは、典型的に、グリセロール、メタノール、無機塩、水、油又は油脂、石鹼及び他の「汚染物質」を含有する。粗製グリセロールは、様々な天然及び合成プロセスによって製造され得る。例えば、粗製グリセロールは、バイオディーゼル製造のプロセスの間に製造可能である。さらに、粗製グリセロールは、鹼化のプロセス（例えば、油又は油脂からの石鹼製造）の間に製造され得る。バイオディーゼル製造の副産物として製造される粗製グリセロールは、典型的に、約 40 %～90 % のグリセロール含有量を有し、かつメタノール、水、塩及び石鹼などの不純物を取り除くか、又は減少させるために部分的に精製されることができる。部分的精製によって、グリセロール含有量を約 90 % グリセロールまで、より特に約 95 % グリセロールまで、及び特定の場合、約 97 % グリセロールまで増加させることができ、これによって、技術グレードグリセロールに関連する純度まで達する。本発明の特定の実施形態において、粗製グリセロールのグリセロール含有量は、約 40 %、41 %、42 %、43 %、44 %、45 %、46 %、47 %、48 %、49 %、50 %、51 %、52 %、53 %、54 %、55 %、56 %、57 %、58 %、59 %、60 %、61 %、62 %、63 %、64 %、65 %、66 %、67 %、68 %、69 %、70 %、71 %、72 %、73 %、74 %、75 %、76 %、77 %、78 %、79 %、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 % 又はそのうちのいずれかの範囲である。

【0062】

さらに、本発明の粗製グリセロール（上記の回収又はリサイクルしたグリセロールを含む）は、それを「純粋」又は技術グレード／精製（例えば、>97 % 純度）グリセロールに変換することなく、本発明での使用のためにそれをより適切に、かつ／又は有利にするために 1 つ以上のプロセスを受けてもよい。例えば、本発明の方法での使用のための粗製

グリセロールは、固体及び他の大きい物質を取り除くために、ろ過ステップを受けてもよい。

【0063】

当業者は、本発明の方法において使用されるグリセロールが粗製及び精製（例えば、>97%純度）グリセロールの混合物、例えば上記の回収又はリサイクルしたグリセロールなどの、部分的に精製又は純化したグリセロールを含んでもよいことを認識するであろう。特定の実施形態によると、粗製グリセロールの量は、粗製及び技術グレードグリセロールの全混合物の重量に基づき、少なくとも5重量%、より特に少なくとも25重量%、なおより特に少なくとも50重量%、さらになおより特に少なくとも75重量%、又はなおさらにより特に少なくとも95重量%であってよい。他の実施形態によると、グリセロールは実質的に100%粗製グリセロールを含んでなる。

10

【0064】

好適には、1種又は以上のポリオールが、薬剤に存在してもよい。例えば、1種、2種、3種、4種、5種又はそれを超えるポリオールが、薬剤に存在することが可能である。ポリオールは、薬剤の約1重量%～約99重量%又はそのうちのいずれかの範囲の量で、例えば、限定されないが、薬剤の約1重量%～約80重量%、約10重量%～約50重量%、約15重量%～約35重量%、約20重量%～約99重量%、約40重量%～約99重量%又は約80重量%～約97重量%の量で薬剤に存在することが可能である。本発明の特定の実施形態において、ポリオールは、薬剤の約1重量%、2重量%、3重量%、4重量%、5重量%、6重量%、7重量%、8重量%、9重量%、10重量%、11重量%、12重量%、13重量%、14重量%、15重量%、16重量%、17重量%、18重量%、19重量%、20重量%、21重量%、22重量%、23重量%、24重量%、25重量%、26重量%、27重量%、28重量%、29重量%、30重量%、31重量%、32重量%、33重量%、34重量%、35重量%、36重量%、37重量%、38重量%、39重量%、40重量%、41重量%、42重量%、43重量%、44重量%、45重量%、46重量%、47重量%、48重量%、49重量%、50重量%、51重量%、52重量%、53重量%、54重量%、55重量%、56重量%、57重量%、58重量%、59重量%、60重量%、61重量%、62重量%、63重量%、64重量%、65重量%、66重量%、67重量%、68重量%、69重量%、70重量%、71重量%、72重量%、73重量%、74重量%、75重量%、76重量%、77重量%、78重量%、79重量%、80重量%、81重量%、82重量%、83重量%、84重量%、85重量%、86重量%、87重量%、88重量%、89重量%、90重量%、91重量%、92重量%、93重量%、94重量%、95重量%、96重量%、97重量%、98重量%、99重量%、100重量%又はそのうちのいずれかの範囲の量で薬剤に存在する。本発明の特に好適な実施形態において、ポリオールは、薬剤の約80重量%～約100重量%の量で存在する。

20

30

【0065】

ステップ(i i)の薬剤が99.9重量%未満のポリオールを含んでなる実施形態に関して、薬剤は、例えば、水、酸又はアルカリをさらに含んでなり得る。しかしながら、薬剤が酸をさらに含んでなる場合、酸は、薬剤の約0.1重量%以下の量で存在するべきである。当業者によって認識されるであろう通り、薬剤の約0.1重量%以下のこの酸の量は、後にステップ(i i)において薬剤と混合され得る、ステップ(i)における酸による処理に続いてリグノセルロース系材料中及び／又は上に残存するいずれの残留酸も含まないであろう。

40

【0066】

ステップ(i i)に関して、薬剤は、好適には、リグノセルロース系材料の約10重量%～約200重量%又はそのうちのいずれかの範囲の量で、例えば、限定されないが、約20重量%～約150重量%、約30重量%～約100重量%、又は約50重量%～約70重量%の量で存在する（すなわち、薬剤対リグノセルロース系材料比）。特定の実施形態において、薬剤は、リグノセルロース系材料の約10重量%、11重量%、12重量%

50

、13重量%、14重量%、15重量%、16重量%、17重量%、18重量%、19重量%、20重量%、21重量%、22重量%、23重量%、24重量%、25重量%、26重量%、27重量%、28重量%、29重量%、30重量%、31重量%、32重量%、33重量%、34重量%、35重量%、36重量%、37重量%、38重量%、39重量%、40重量%、41重量%、42重量%、43重量%、44重量%、45重量%、46重量%、47重量%、48重量%、49重量%、50重量%、51重量%、52重量%、53重量%、54重量%、55重量%、56重量%、57重量%、58重量%、59重量%、60重量%、61重量%、62重量%、63重量%、64重量%、65重量%、66重量%、67重量%、68重量%、69重量%、70重量%、71重量%、72重量%、73重量%、74重量%、75重量%、76重量%、77重量%、78重量%、79重量%、80重量%、81重量%、82重量%、83重量%、84重量%、85重量%、86重量%、87重量%、88重量%、89重量%、90重量%、91重量%、92重量%、93重量%、94重量%、95重量%、96重量%、97重量%、98重量%、99重量%、100重量%、101重量%、102重量%、103重量%、104重量%、105重量%、106重量%、107重量%、108重量%、109重量%、110重量%、111重量%、112重量%、113重量%、114重量%、115重量%、116重量%、117重量%、118重量%、119重量%、120重量%、121重量%、122重量%、123重量%、124重量%、125重量%、126重量%、127重量%、128重量%、129重量%、130重量%、131重量%、132重量%、133重量%、134重量%、135重量%、136重量%、137重量%、138重量%、139重量%、140重量%、141重量%、142重量%、143重量%、144重量%、145重量%、146重量%、147重量%、148重量%、149重量%、150重量%、151重量%、152重量%、153重量%、154重量%、155重量%、156重量%、157重量%、158重量%、159重量%、160重量%、161重量%、162重量%、163重量%、164重量%、165重量%、166重量%、167重量%、168重量%、169重量%、170重量%、171重量%、172重量%、173重量%、174重量%、175重量%、176重量%、177重量%、178重量%、179重量%、180重量%、181重量%、182重量%、183重量%、184重量%、185重量%、186重量%、187重量%、188重量%、189重量%、190重量%、191重量%、192重量%、193重量%、194重量%、195重量%、196重量%、197重量%、198重量%、199重量%、200重量%又はそのうちのいずれかの範囲の量で存在する。

【0067】

適切には、ステップ(i)は、約20～99℃又はそのうちのいずれかの範囲、例えば、限定されないが、約20℃～約90℃又は約25℃～約80℃の温度で実行される。特定の実施形態において、ステップ(i)は、約21℃、22℃、23℃、24℃、25℃、26℃、27℃、28℃、29℃、30℃、31℃、32℃、33℃、34℃、35℃、36℃、37℃、38℃、39℃、40℃、41℃、42℃、43℃、44℃、45℃、46℃、47℃、48℃、49℃、50℃、51℃、52℃、53℃、54℃、55℃、56℃、57℃、58℃、59℃、60℃、61℃、62℃、63℃、64℃、65℃、66℃、67℃、68℃、69℃、70℃、71℃、72℃、73℃、74℃、75℃、76℃、77℃、78℃、79℃、80℃、81℃、82℃、83℃、84℃、85℃、86℃、87℃、88℃、89℃、90℃、91℃、92℃、93℃、94℃、95℃、96℃、97℃、98℃及び99℃の温度で実行される。ステップ(i)は好適には、約25℃～約75℃の温度で行われる。

【0068】

適切には、ステップ(ii)は、約100～約220℃又はそのうちのいずれかの範囲、例えば、限定されないが、約120℃～約200℃、約140℃～約180℃又は約150℃～約170℃の温度で実行される。特定の実施形態において、ステップ(ii)は、約100℃、101℃、102℃、103℃、104℃、105℃、106℃、107

10

20

30

40

50

℃、108℃、109℃、110℃、111℃、112℃、113℃、114℃、115℃、116℃、117℃、118℃、119℃、120℃、121℃、122℃、123℃、124℃、125℃、126℃、127℃、128℃、129℃、130℃、131℃、132℃、133℃、134℃、135℃、136℃、137℃、138℃、139℃、140℃、141℃、142℃、143℃、144℃、145℃、146℃、147℃、148℃、149℃、150℃、151℃、152℃、153℃、154℃、155℃、156℃、157℃、158℃、159℃、160℃、161℃、162℃、163℃、164℃、165℃、166℃、167℃、168℃、169℃、170℃、171℃、172℃、173℃、174℃、175℃、176℃、177℃、178℃、179℃、180℃、181℃、182℃、183℃、184℃、185℃、186℃、187℃、188℃、189℃、190℃、191℃、192℃、193℃、194℃、195℃、196℃、197℃、198℃、199℃、200℃、201℃、202℃、203℃、204℃、205℃、206℃、207℃、208℃、209℃、210℃、211℃、212℃、213℃、214℃、215℃、216℃、217℃、218℃、219℃、220℃又はそのうちのいずれかの範囲の温度で実行される。特定の好適な実施形態において、ステップ(i i)は、約160℃の温度で実行される。当業者によって十分理解されるであろう通り、ステップ(i)及び(i i)は、異なる温度で実行されてもよい。

10

【0069】

ステップ(i)は、好適には、約5分～約30分又はそのうちのいずれかの範囲、例えば、限定されないが、約5分～約25分又は約10分～約15分の時間で実行される。特定の実施形態において、ステップ(i)は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30分又はそのうちのいずれかの範囲の時間で実行される。特に好適な実施形態において、ステップ(i)は、約10分の時間で実行される。

20

【0070】

ステップ(i i)は、好適には、約5～約120分又はそのうちのいずれかの範囲、例えば、限定されないが、約15分～約60分又は約20分～約40分の時間で実行される。特定の実施形態において、ステップ(i i)は、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120分又はそのうちのいずれかの範囲の時間で実行される。特に好適な実施形態において、ステップ(i i)は、約30分の時間で実行される。

30

40

【0071】

本明細書に記載の方法によるリグノセルロース系材料の処理後、リグノセルロース系材料は、当業者に既知のいずれかの手段によって、液体フラクションから分離され得る。液体フラクションからリグノセルロース系材料を分離する方法としては、限定されないが、真空ろ過、膜ろ過、ふるいろ過、部分的又は粗ろ過、あるいはそれらのいずれかの組合せが含まれ得る。分離ステップによって、液体フラクション(すなわち、ろ液又は水可溶化液)及び固体残渣フラクション(すなわち、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料)を生じることができる。本発明のいくつかの実施形態において、分離の前、間及び／又は後に、処理されたリグノセルロース系材料に水及び／又は洗浄溶液が添加される。

50

洗浄溶液は、それらに限定されないが、水、酸性溶液、アルカリ性溶液及び／又は有機溶媒であり得るか、又はそれを含んでなり得る。さらに、いくつかの連続分離プロセスにおいて、水及び／又は洗浄溶液は、リグノセルロース系材料の動きの流れに並流又は向流を加え得る。例えば、真空ろ過ベルト又は重力洗浄テーブルにおいて、洗浄溶液はベルトの動きに対して向流に流れてリグノセルロース系材料中を数回循環し得、このようにしてリグノセルロース系材料を効果的に洗浄するために必要とされる洗浄溶液の量を制限し得る。したがって、処理されたリグノセルロース系材料は、処理プロセスからの薬剤、残留酸、残留アルカリ及び／又は副産物、例えば、限定されないが、ポリオール、グリセロール残渣、ならびに処理ステップから製造された生成物を含み得る。

【0072】

10

任意選択的に、本明細書に記載の方法によるリグノセルロース系材料の処理後、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料は洗浄溶液で洗浄されてもよい。洗浄溶液は、限定されないが、酸性溶液、アルカリ性溶液及び／又は有機溶媒を含んでなってもよい。

【0073】

このように、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料は、当該技術分野において既知のいずれかの手段又は方法によって洗浄されてもよい。特定の実施形態において、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料は、本明細書に記載されるようなベルト真空ろ過機又は歩行重力洗浄テーブルによって、少なくとも部分的に洗浄される。

【0074】

さらなる態様において、本発明は、上記方法によって製造された部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を提供する。

20

なおさらなる態様において、本発明は、発酵性糖を製造する方法であって、上記方法によって製造された部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を酵素的に加水分解して、発酵性糖を製造するステップを含む、方法を提供する。

【0075】

当業者によって容易に理解されるであろう通り、上記方法は、この方法を受けなかったリグノセルロース系材料と比較して、リグノセルロース系材料を酵素的消化又は加水分解を受けやすい材料にさせ得る。したがって、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料の同一酵素量における酵素加水分解は、本明細書に記載される方法によって処理されていないリグノセルロース系材料の酵素消化と比較して、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍又は8倍以上増加され得る。あるいは、より低い費用で効果的な速度及び収率を得るために、酵素のより少ない量を使用することができる。

30

【0076】

酵素は、微生物によって製造可能であり、及び／又は植物によって製造可能であり、限定されないが、セルラーゼ、ヘミセルラーゼ、キシラナーゼ、リグニナーゼ、ペクチナーゼ、プロテアーゼ、アミラーゼ、カタラーゼ、クチナーゼ、グルカナーゼ、グルコアミラーゼ、グルコースイソメラーゼ、リパーゼ、ラッカーゼ、フィターゼ、プルランナーゼ、キシロースイソメラーゼ又はそれらのいずれかの組合せが含まれる。酵素組成物は、液体、スラリー、固体又はゲルとして調製され得る。

【0077】

40

「セルラーゼ」は、本明細書で使用される場合、セルロースをグルコースへと加水分解することができる酵素を意味する。セルラーゼの非限定的な例としては、マンナンエンド1, 4-β-マンノシダーゼ、1, 3-β-D-グルカングルカノヒドロラーゼ、1, 3-β-グルカングルコヒドラーゼ、1, 3-1, 4-β-D-グルカングルカノヒドロラーゼ及び1, 6-β-D-グルカングルカノヒドロラーゼが含まれる。

【0078】

「キシラナーゼ」は、本明細書で使用される場合、キシランをキシロピオーゼ及びキシロトリオーゼに少なくとも加水分解することができる酵素を意味する。キシラナーゼの例は、限定されないが、ディクチオグロムス・サーモフィラム (*Dictyoglomus thermophilum*) Rt 46 B. 1を含むディクチオグロムス種 (*Dicty*

50

og l o m u s s p) からであることができる (例えば、ギブス (G i b b s) ら著、1995年、アプライ・アンド・エンバイロメンタル・ミクロバイオロジー (A p p L E n v i r o n . M i c r o b i o L)、第61巻、p. 4403~4408を参照のこと)。

【0079】

酵素の追加の非限定的な例としては、 α -L-アラビノスラノシダーゼ、 α -グルクロニダーゼ、アセチルマンナンエステラーゼ、アセチルキシランエステラーゼ、 α -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、エクソキシラナーゼ、 β -1, 4-キシロシダーゼ、エンド-1, 4- β -キシラナーゼ、エンド-ガラクタナーゼ、エンド- β -1, 4-マンナンアーゼ、1, 4- β -D-グルカンセロビオヒドロラーゼ、エンド-1, 4- β -D-グルカナナーゼ、 β -グルコシダーゼ、エンド- α -1, 5-アラビナナーゼ、エクソ- β -1, 4-マンノシダーゼ、セロビオヒドロラーゼ、エンドグルカナナーゼ、エクソ- β -1, 4-キシロシダーゼ、フェルロイルエステラーゼ、フェルラ酸エステラーゼ、p-クミン酸エステラーゼ、グルクロノキシランキシラノヒドロラーゼ、キシログルカンエンドトランスグリコシラーゼ、ジアリールプロパンペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グリオキサロオキシダーゼ、リグニンペルオキシダーゼ (L i P)、マンナンペルオキシダーゼ、メタノールオキシダーゼ、メタノールオキシドレダクターゼ、フェノールオキシダーゼ (ラッカーゼ)、フェノールペルオキシダーゼ、ベラトリルアルコールオキシダーゼ、ペクトリアーゼ、ペクトザイム、ポリガラクトツロナーゼ、アスクレパイン、ブロメライン、カリカイン、キモパパイン、コラゲナーゼ、グリシルエンドペプチダーゼ、ペプシン、プロナーゼ、サブチリシン、サーモリシン又はそれらの組合せが含まれる。

【0080】

さらに、酵素加水分解には、キシラナーゼ及びセルラーゼ活性の両方を有する酵素などの二重活性酵素であり得る1種以上の酵素が関与し得る。

好適には、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を酵素的に加水分解するステップは、その少なくとも一部において、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を、セルラーゼ、リグニナーゼ、ヘミセルラーゼ、キシラナーゼ、リパーゼ、ペクチナーゼ、アミラーゼ、プロテイナーゼ及びそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される1種以上の酵素と接触させることによって実行される。

【0081】

酵素は、部分的又は完全に精製された全長酵素として、又はその活性変異形もしくは断片として提供されてもよく、あるいは酵素生成微生物として提供されることができる。さらに、これらの酵素のいずれも、基質の約0.001重量%~約50重量%、約0.01重量%~約50重量%、約0.1重量%~約50重量%、約1重量%~約50重量%、約10重量%~約50重量%、約20重量%~約50重量%、約30重量%~約50重量%、約40重量%~約50重量%又はそれを超える量など、酸及び/又はアルカリ、薬剤及び/又はこの方法からの副産物 (例えば、限定されないが、ポリオール、グリセロール残渣及び処理プロセスから製造された製品) を任意選択的に含み得る、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を消化又は加水分解するために有効な量で提供され得る。

【0082】

一実施形態において、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を酵素的に加水分解するステップは、約2%~約30%又はそのうちのいずれかの範囲、例えば、限定されないが、約3%~約12%又は約5%~約10%の固体対液体比で実行される。特定の実施形態において、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を酵素的に加水分解するステップは、約2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5%、10%、10.5%、11%、11.5%、12%、12.5%、13%、13.5%、14%、14.5%、15%、16.5%、17%、17.5%、18%、18.5%、19%、19.5%、20%、20.5%、21%、21.5%、22%、22.5%、23%、23.5%、24%、24.5%、25%、25.5%、26%、26.5%、27%、27.5%、28%、28.5%、29%、29.5%、30%、30.5%、31%、31.5%、32%、32.5%、33%、33.5%、34%、34.5%、35%、35.5%、36%、36.5%、37%、37.5%、38%、38.5%、39%、39.5%、40%、40.5%、41%、41.5%、42%、42.5%、43%、43.5%、44%、44.5%、45%、45.5%、46%、46.5%、47%、47.5%、48%、48.5%、49%、49.5%、50%、50.5%、51%、51.5%、52%、52.5%、53%、53.5%、54%、54.5%、55%、55.5%、56%、56.5%、57%、57.5%、58%、58.5%、59%、59.5%、60%、60.5%、61%、61.5%、62%、62.5%、63%、63.5%、64%、64.5%、65%、65.5%、66%、66.5%、67%、67.5%、68%、68.5%、69%、69.5%、70%、70.5%、71%、71.5%、72%、72.5%、73%、73.5%、74%、74.5%、75%、75.5%、76%、76.5%、77%、77.5%、78%、78.5%、79%、79.5%、80%、80.5%、81%、81.5%、82%、82.5%、83%、83.5%、84%、84.5%、85%、85.5%、86%、86.5%、87%、87.5%、88%、88.5%、89%、89.5%、90%、90.5%、91%、91.5%、92%、92.5%、93%、93.5%、94%、94.5%、95%、95.5%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%、99.5%、100%、100.5%、101%、101.5%、102%、102.5%、103%、103.5%、104%、104.5%、105%、105.5%、106%、106.5%、107%、107.5%、108%、108.5%、109%、109.5%、110%、110.5%、111%、111.5%、112%、112.5%、113%、113.5%、114%、114.5%、115%、115.5%、116%、116.5%、117%、117.5%、118%、118.5%、119%、119.5%、120%、120.5%、121%、121.5%、122%、122.5%、123%、123.5%、124%、124.5%、125%、125.5%、126%、126.5%、127%、127.5%、128%、128.5%、129%、129.5%、130%、130.5%、131%、131.5%、132%、132.5%、133%、133.5%、134%、134.5%、135%、135.5%、136%、136.5%、137%、137.5%、138%、138.5%、139%、139.5%、140%、140.5%、141%、141.5%、142%、142.5%、143%、143.5%、144%、144.5%、145%、145.5%、146%、146.5%、147%、147.5%、148%、148.5%、149%、149.5%、150%、150.5%、151%、151.5%、152%、152.5%、153%、153.5%、154%、154.5%、155%、155.5%、156%、156.5%、157%、157.5%、158%、158.5%、159%、159.5%、160%、160.5%、161%、161.5%、162%、162.5%、163%、163.5%、164%、164.5%、165%、165.5%、166%、166.5%、167%、167.5%、168%、168.5%、169%、169.5%、170%、170.5%、171%、171.5%、172%、172.5%、173%、173.5%、174%、174.5%、175%、175.5%、176%、176.5%、177%、177.5%、178%、178.5%、179%、179.5%、180%、180.5%、181%、181.5%、182%、182.5%、183%、183.5%、184%、184.5%、185%、185.5%、186%、186.5%、187%、187.5%、188%、188.5%、189%、189.5%、190%、190.5%、191%、191.5%、192%、192.5%、193%、193.5%、194%、194.5%、195%、195.5%、196%、196.5%、197%、197.5%、198%、198.5%、199%、199.5%、200%、200.5%、201%、201.5%、202%、202.5%、203%、203.5%、204%、204.5%、205%、205.5%、206%、206.5%、207%、207.5%、208%、208.5%、209%、209.5%、210%、210.5%、211%、211.5%、212%、212.5%、213%、213.5%、214%、214.5%、215%、215.5%、216%、216.5%、217%、217.5%、218%、218.5%、219%、219.5%、220%、220.5%、221%、221.5%、222%、222.5%、223%、223.5%、224%、224.5%、225%、225.5%、226%、226.5%、227%、227.5%、228%、228.5%、229%、229.5%、230%、230.5%、231%、231.5%、232%、232.5%、233%、233.5%、234%、234.5%、235%、235.5%、236%、236.5%、237%、237.5%、238%、238.5%、239%、239.5%、240%、240.5%、241%、241.5%、242%、242.5%、243%、243.5%、244%、244.5%、245%、245.5%、246%、246.5%、247%、247.5%、248%、248.5%、249%、249.5%、250%、250.5%、251%、251.5%、252%、252.5%、253%、253.5%、254%、254.5%、255%、255.5%、256%、256.5%、257%、257.5%、258%、258.5%、259%、259.5%、260%、260.5%、261%、261.5%、262%、262.5%、263%、263.5%、264%、264.5%、265%、265.5%、266%、266.5%、267%、267.5%、268%、268.5%、269%、269.5%、270%、270.5%、271%、271.5%、272%、272.5%、273%、273.5%、274%、274.5%、275%、275.5%、276%、276.5%、277%、277.5%、278%、278.5%、279%、279.5%、280%、280.5%、281%、281.5%、282%、282.5%、283%、283.5%、284%、284.5%、285%、285.5%、286%、286.5%、287%、287.5%、288%、288.5%、289%、289.5%、290%、290.5%、291%、291.5%、292%、292.5%、293%、293.5%、294%、294.5%、295%、295.5%、296%、296.5%、297%、297.5%、298%、298.5%、299%、299.5%、300%、300.5%、301%、301.5%、302%、302.5%、303%、303.5%、304%、304.5%、305%、305.5%、306%、306.5%、307%、307.5%、308%、308.5%、309%、309.5%、310%、310.5%、311%、311.5%、312%、312.5%、313%、313.5%、314%、314.5%、315%、315.5%、316%、316.5%、317%、317.5%、318%、318.5%、319%、319.5%、320%、320.5%、321%、321.5%、322%、322.5%、323%、323.5%、324%、324.5%、325%、325.5%、326%、326.5%、327%、327.5%、328%、328.5%、329%、329.5%、330%、330.5%、331%、331.5%、332%、332.5%、333%、333.5%、334%、334.5%、335%、335.5%、336%、336.5%、337%、337.5%、338%、338.5%、339%、339.5%、340%、340.5%、341%、341.5%、342%、342.5%、343%、343.5%、344%、344.5%、345%、345.5%、346%、346.5%、347%、347.5%、348%、348.5%、349%、349.5%、350%、350.5%、351%、351.5%、352%、352.5%、353%、353.5%、354%、354.5%、355%、355.5%、356%、356.5%、357%、357.5%、358%、358.5%、359%、359.5%、360%、360.5%、361%、361.5%、362%、362.5%、363%、363.5%、364%、364.5%、365%、365.5%、366%、366.5%、367%、367.5%、368%、368.5%、369%、369.5%、370%、370.5%、371%、371.5%、372%、372.5%、373%、373.5%、374%、374.5%、375%、375.5%、376%、376.5%、377%、377.5%、378%、378.5%、379%、379.5%、380%、380.5%、381%、381.5%、382%、382.5%、383%、383.5%、384%、384.5%、385%、385.5%、386%、386.5%、387%、387.5%、388%、388.5%、389%、389.5%、390%、390.5%、391%、391.5%、392%、392.5%、393%、393.5%、394%、394.5%、395%、395.5%、396%、396.5%、397%、397.5%、398%、398.5%、399%、399.5%、400%、400.5%、401%、401.5%、402%、402.5%、403%、403.5%、404%、404.5%、405%、405.5%、406%、406.5%、407%、407.5%、408%、408.5%、409%、409.5%、410%、410.5%、411%、411.5%、412%、412.5%、413%、413.5%、414%、414.5%、415%、415.5%、416%、416.5%、417%、417.5%、418%、418.5%、419%、419.5%、420%、420.5%、421%、421.5%、422%、422.5%、423%、423.5%、424%、424.5%、425%、425.5%、426%、426.5%、427%、427.5%、428%、428.5%、429%、429.5%、430%、430.5%、431%、431.5%、432%、432.5%、433%、433.5%、434%、434.5%、435%、435.5%、436%、436.5%、437%、437.5%、438%、438.5%、439%、439.5%、440%、440.5%、441%、441.5%、442%、442.5%、443%、443.5%、444%、444.5%、445%、445.5%、446%、446.5%、447%、447.5%、448%、448.5%、449%、449.5%、450%、450.5%、451%、451.5%、452%、452.5%、453%、453.5%、454%、454.5%、455%、455.5%、456%、456.5%、457%、457.5%、458%、458.5%、459%、459.5%、460%、460.5%、461%、461.5%、462%、462.5%、463%、463.5%、464%、464.5%、465%、465.5%、466%、466.5%、467%、467.5%、468%、468.5%、469%、469.5%、470%、470.5%、471%、471.5%、472%、472.5%、473%、473.5%、474%、474.5%、475%、475.5%、476%、476.5%、477%、477.5%、478%、478.5%、479%、479.5%、480%、480.5%、481%、481.5%、482%、482.5%、483%、483.5%、484%、484.5%、485%、485.5%、486%、486.5%、487%、487.5%、488%、488.5%、489%、489.5%、490%、490.5%、491%、491.5%、492%、492.5%、493%、493.5%、494%、494.5%、495%、495.5%、496%、496.5%、497%、497.5%、498%、498.5%、499%、499.5%、500%、500.5%、501%、501.5%、502%、502.5%、503%、503.5%、504%、504.5%、505%、505.5%、506%、506.5%、507%、507.5%、508%、508.5%、509%、509.5%、510%、510.5%、511%、511.5%、512%、512.5%、513%、513.5%、514%、514.5%、515%、515.5%、516%、516.5%、517%、517.5%、518%、518.5%、519%、519.5%、520%、520.5%、521%、521.5%、522%、522.5%、523%、523.5%、524%、524.5%、525%、525.5%、526%、526.5%、527%、527.5%、528%、528.5%、529%、529.5%、530%、530.5%、531%、531.5%、532%、532.5%、533%、533.5%、534%、534.5%、535%、535.5%、536%、536.5%、537%、537.5%、538%、538.5%、539%、539.5%、540%、540.5%、541%、541.5%、542%、542.5%、543%、543.5%、544%、544.5%、545%、545.5%、546%、546.5%、547%、547.5%、548%、548.5%、549%、549.5%、550%、550.5%、551%、551.5%、552%、552.5%、553%、553.5%、554%、554.5%、555%、555.5%、556%、556.5%、557%、557.5%、558%、558.5%、559%、559.5%、560%、560.5%、561%、561.5%、562%、562.5%、563%、563.5%、564%、564.5%、565%、565.5%、566%、566.5%、567%、567.5%、568%、568.5%、569%、569.5%、570%、570.5%、571%、571.5%、572%、572.5%、573%、573.5%、574%、574.5%、575%、575.5%、576%、576.5%、577%、577.5%、578%、578.5%、579%、579.5%、580%、580.5%、581%、581.5%、582%、582.5%、583%、583.5%、584%、584.5%、585%、585.5%、586%、586.5%、587%、587.5%、588%、588.5%、589%、589.5%、590%、590.5%、591%、591.5%、592%、592.5%、593%、593.5%、594%、594.5%、595%、595.5%、596%、596.5%、597%、597.5%、598%、598.5%、599%、599.5%、600%、600.5%、601%、601.5%、602%、602.5%、603%、603.5%、604%、604.5%、605%、605.5%、606%、606.5%、607%、607.5%、608%、608.5%、609%、609.5%、610%、610.5%、611%、611.5%、612%、612.5%、613%、613.5%、614%、614.5%、615%、615.5%、616%、616.5%、617%、617.5%、618%、618.5%、619%、619.5%、620%、620.5%、621%、621.5%、622%、622.5%、623%、623.5%、624%、624.5%、625%、625.5%、626%、626.5%、627%、627.5%、628%、628.5%、629%、629.5%、630%、630.5%、631%、631.5%、632%、632.5%、633%、633.5%、634%、634.5%、635%、635.5%、636%、636.5%、637%、637.5%、638%、638.5%、639%、639.5%、640%、640.5%、641%、641.5%、642%、642.5%、643%、643.5%、644%、644.5%、645%、645.5%、646%、646.5%、647%、647.5%、648%、648.5%、649%、649.5%、650%、650.5%、651%、651.5%、652%、652.5%、653%、653.5%、654%、654.5%、655%、655.5%、656%、656.5%、657%、657.5%、658%、658.5%、659%、659.5%、660%、660.5%、661%、661.5%、662%、662.5%、663%、663.5%、664%、664.5%、665%、665.5%、666%、666.5%、667%、667.5%、668%、668.5%、669%、669.5%、670%、670.5%、671%、671.5%、672%、672.5%、673%、673.5%、674%、674.5%、675%、675.5%、676%、676.5%、677%、677.5%、678%、678.5%、679%、679.5%、680%、680.5%、681%、681.5%、682%、682.5%、683%、683.5%、684%、684.5%、685%、685.5%、686%、686.5%、687%、687.5%、688%、688.5%、689%、689.5%、690%、690.5%、691%、691.5%、692%、692.5%、693%、693.5%、694%、694.5%、695%、695.5%、696%、696.5%、697%、697.5%、698%、698.5%、699%、699.5%、700%、700.5%、701%、701.5%、702%、702.5%、703%、703.5%、704%、704.5%、705%、705.5%、706%、706.5%、707%、707.5%、708%、708.5%、709%、709.5%、710%、710.5%、711%、711.5%、712%、712.5%、713%、713.5%、714%、714.5%、715%、715.5%、716%、716.5%、717%、717.5%、718%、718.5%、719%、719.5%、720%、720.5%、721%、721.5%、722%、722.5%、723%、723.5%、724%、724.5%、725%、725.5%、726%、726.5%、727%、727.5%、728%、728.5%、729%、729.5%、730%、730.5%、731%、731.5%、732%、732.5%、733%、733.5%、734%、734.5%、735%、735.5%、736%、736.5%、737%、737.5%、738%、738.5%、739%、739.5%、740%、740.5%、741%、741.5%、742%、742.5%、743%、743.5%、744%、744.5%、745%、745.5%、746%、746.5%、747%、747.5%、748%、748.5%、749%、749.5%、750%、750.5%、751%、751.5%、752%、752.5%、753%、753.5%、754%、754.5%、755%、755.5%、756%、756.5%、757%、757.5%、758%、758.5%、759%、759.5%、760%、760.5%、761%、761.5%、762%、762.5%、763%、763.5%、764%、764.5%、765%、765.5%、766%、766.5%、767%、767.5%、768%、768.5%、769%、769.5%、770%、770.5%、771%、771.5%、772%、772.5%、773%、773.5%、774%、774.5%、775%、775.5%、776%、776.5%、777%、777.5%、778%、778.5%、779%、779.5%、780%、780.5%、781%、781.5%、782%、782.5%、783%、783.5%、784%、784.5%、785%、785.5%、786%、786.5%、787%、787.5%、788%、788.5%、789%、789.5%、790%、790.5%、791%、791.5%、792%、792.5%、793%、793.5%、794%、794.5%、795%、795.5%、796%、796.5%、797%、797.5%、798%、798.5%、799%、799.5%、800%、800.5%、801%、801.5%、802%、802.5%、803%、803.5%、804%、804.5%、805%、805.5%、806%、806.5%、807%、807.5%、808%、808.5%、809%、809.5%、810%、810.5%、811%、811.5%、812%、812.5%、813%、813.5%、814%、814.5%、815%、815.5%、816%、816.5%、817%、817.5%、818%、818.5%、819%、819.5%、820%、820.5%、821%、821.5%、822%、822.5%、823%、823.5%、824%、824.5%、825%、825.5%、826%、826.5%、827%、827.5%、828%、828.5%、829%、829.5%、830%、830.5%、831%、831.5%、832%、832.5%、833%、833.5%、834%、834.5%、835%、835.5%、836%、836.5%、837%、837.5%、838%、838.5%、839%、839.5%、840%、840.5%、841%、841.5%、842%、842.5%、843%、843.5%、844%、844.5%、845%、845.5%、846%、846.5%、847%、847.5%、848%、848.5%、849%、849.5%、850%、850.5%、851%、851.5%、852%、852.5%、853%、853.5%、854%、854.5%、855%、855.5%、856%、856.5%、857%、857.5%、858%、858.5%、859%、859.5%、860%、860.5%、861%、861.5%、862%、862.5%、863%、863.5%、864%、864.5%、865%、865.5%、866%、866.5%、867%、867.5%、868%、868.5%、869%、869.5%、870%、870.5%、871%、871.5%、872%、872.5%、873%、873.5%、874%、874.5%、875%、875.5%、876%、876.5%、877%、877.5%、878%、878.5%、879%、879.5%、880%、880.5%、881%、881.5%、882%、882.5%、883%、883.5%、884%、884.5%、885%、885.5%、886%、886.5%、887%、887.5%、888%、888.5%、889%、889.5%、890%、890.5%、891%、891.5%、892%、892.5%、893%、893.5%、894%、894.5%、895%、895.5%、896%、896.5%、897%、897.5%、898%、898.5%、899%、899.5%、900%、900.5%、901%、901.5%、902%、902.5%、903%、903.5%、904%、904.5%、905%、905.5%、906%、906.5%、907%、907.5%、908%、908.5%、909%、909.5%、910%、910.5%、911%、911.5%、912%、912.5%、913%、913.5%、914%、914.5%、915%、915.5%、916%、916.5%、917%、917.5%、918%、918.5%、919%、919.5%

5 %、28 %、28.5 %、29 %、29.5 %及び30 %又はそのうちのいずれかの範囲の固体対液体比で実行される。特に好適な実施形態において、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を酵素的に加水分解するステップは、約15 %の固体対液体比で実行される。

【0083】

特定の実施形態において、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料は、低濃度の1種以上の酵素のうちの1種以上と接触させられる。「低濃度」とは、糖化において典型的に使用される従来の濃度より低い、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料の酵素加水分解が有効な速度及び収率でなお生じるか、又は進行する酵素濃度を意味する。当業者は、特定の酵素の適切な低濃度を容易に決定することができる。例として、1種以上の酵素のうちの1種以上の濃度は、糖化において典型的に使用される従来の酵素濃度の10 %以下、好適には20 %以下、より好適には30 %以下、又はさらにより好適には40 %、50 %、60 %、70 %、80 %又は90 %以下であってよい。特定の実施形態において、1種以上の酵素のうちの1種以上の濃度は、グルカン1グラム当たり約2 mg～約10 mgである。

10

【0084】

酵素組成物は、限定されないが、塩素、清浄剤、次亜塩素酸塩、過酸化水素、シュウ酸、過酸、pH調節剤、リン酸三ナトリウム、亜塩素酸ナトリウム、硝酸ナトリウム、界面活性剤、尿素、緩衝剤及び／又は水を含むリグノセルロース系材料（例えば、バイオマス）の加工における使用に関して当業者に既知のさらなる薬剤を含むことができる。

20

【0085】

清浄剤の例としては、限定されないが、アニオン性、カチオン性又は中性洗剤、例えば、ノニデット（Nonidet）（N）P-40、ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）、ラウリル硫酸ナトリウム（SLS）、スルホベタイン、n-オクチルグルコシド、デオキシコレート、トリトン（Triton）（登録商標）X-100（ダウ・ケミカル・カンパニー（Dow Chemical Co.）；ミッドランド、MI）及び／又はツイーン（Tween）（登録商標）20（ICIアメリカンズ・インコーポレイテッド（ICI Americas, Inc.）；ブリッジウォーター、NJ）が含まれる。界面活性剤の非限定的な例としては、第二級アルコールエトキシレート、脂肪アルコールエトキシレート、ノニルフェノールエトキシレート、脂肪アルコールのリン酸エステル、ポリオキシエチレンエーテル、ポリエチレングリコール、ポリオキシエチレン化アルキルフェノール、ステアリン酸及び／又はトリデシルエトキシレートが含まれる。

30

【0086】

さらなる試薬のいずれも、部分的又は完全に精製して提供することができる。さらには、これらのさらなる試薬のいずれも、基質の約0.001重量%～約50重量%、約0.01重量%～約50重量%、約0.1重量%～約50重量%、約1重量%～約50重量%、約10重量%～約50重量%、約20重量%～約50重量%、約30重量%～約50重量%、約40重量%～約50重量%又はそれを超える量で提供することができる。

【0087】

本発明の酵素組成物は、リグノセルロース系材料の加工、分裂及び／又は分解を補助することができる菌類又は他の酵素生成微生物、特にエタノール生成及び／又はリグニン可溶化微生物も含んでよい。エタノール生成及び／又はリグニン可溶化微生物の非限定的な例としては、細菌及び酵母が含まれる。一般に、ブルクハルト及びイングラム（Burkhardt & Ingram）著、1992年、アプライド・アンド・エンバイロメンタル・ミクロバイオロジー（Appl. Environ. Microbiol.）、第58巻、p. 1128～1133；ジエン（Dien）ら著、1998年、エンザイム・アンド・ミクロバイアル・テクノロジー（Enzyme Microb. Tech.）、第23巻、p. 366～371；キーティング（Keating）ら著、2004年、エンザイム・アンド・ミクロバイアル・テクノロジー（Enzyme Microb. Tech.）、第35巻、p. 242～253；ローフォード及びルソー（Lawford & Ro

40

50

usseau) 著、1997年、アプライド・アンド・エンバイロメンタル・ミクロバイオロジー (Appl. Environ. Microbiol.)、第63～65巻、p. 221～241；ハンドブック・オン・バイオエタノール：プロダクション・アンド・ユーティリティ (Handbook on Bioethanol: Production and Utilization)、ワイマン (Wyman) 編、CRCプレス (CRC Press)、1996年) ならびに米国特許出願公開第2009/0246841号明細書及び同第2009/0286293号明細書、ならびに米国特許第6,333,181号明細書を参照のこと。このような微生物は、限定されないが、アルコールデヒドロゲナーゼ、ピルビン酸デカルボキシラーゼ、トランスアルドラーゼ、トランスケトラーゼ、ピルビン酸デカルボキシラーゼ、キシロースレダクターゼ、キシリトールデヒドロゲナーゼ又はキシロースイソメラーゼ、キシロキナーゼを含むリグノセルロース系材料の加工を補助する酵素を生成し得る。本発明のいくつかの実施形態において、エタノール生成及び／又はリグニン可溶化微生物としては、限定されないが、カンジダ属 (Candida)、エルウィニア属 (Erwinia)、大腸菌属 (Escherichia)、クレブシエラ属 (Klebsiella)、ピキア属 (Pichia)、サッカロミセス属 (Saccharomyces)、ストレプトマイセス属 (Streptomyces) 及びザイモモナス属 (Zymomonas) が含まれる。例えば、ジエン (Dien) 著、1998年、上記)；イングラム及びコンウェイ (Ingram & Conway) 著、1988年、アプライド・アンド・エンバイロメンタル・ミクロバイオロジー (Appl. Environ. Microbiol.)、第54巻、p. 397～404；ジャーボー (Jarboe) ら著、2007年、アドバンス・イン・バイオケミカル・エンジニアリング／バイオテクノロジー (Adv. Biochem. Engin. / Biotechnol.)、第108巻、p. 237～261；キーティング (Keating) ら著、2004年、ジャーナル・オブ・インダストリアル・ミクロバイオロジー・アンド・バイオテクノロジー (J. Indust. Microbiol. Biotech.)、第31巻、p. 235～244；キーティング (Keating) ら著、2006年、バイオテクノロジー・アンド・バイオエンジニアリング (Biotechnol. Bioeng.)、第93巻、p. 1196～1206；パスティ (Pasti) ら著、1990年、アプライド・アンド・エンバイロメンタル・ミクロバイオロジー (Appl. Environ. Microbiol.)、第56巻、p. 2213～2218；及びチャン (Zhang) ら著、1995年、サイエンス (Science)、第267巻、p. 24010243を参照のこと。

【0088】

「発酵性糖」は、本明細書で使用される場合、発酵プロセスにおいて微生物によって炭素源として使用され得るオリゴ糖及び／又は単糖を意味する。発酵性糖の例としては、グルコース、キシロース、アラビノース、ガラクトース、マンノース、ラムノースを含む、スクロース、フルクトース又はそれらのいずれかの組合せが含まれる。

【0089】

別の態様において、本発明は、本明細書に記載される方法によって製造された発酵性糖を提供する。

好適には上記態様に関して、発酵性糖は、グルコース、キシロース、アラビノース、ガラクトース、マンノース、ラムノース、スクロース、フルクトース及びそれらのいずれかの組合せからなる群から選択される。

【0090】

さらに別の態様において、本発明は、発酵生成物を製造する方法であって、本明細書に開示された方法によって製造された発酵性糖を処理して、それにより発酵生成物を製造するステップを含む、方法を提供する。

【0091】

当業者によって容易に理解されるであろう通り、本明細書に記載される方法によって製造された発酵性糖は、次いで、有用な価値が付加された発酵生成物へと変換され得、それ

らの非限定的な例としては、リシン、メチオニン、トリプトファン、トレオニン及びアスパラギン酸などのアミノ酸；ビタミン；医薬品；動物餌サプリメント；専門的化学物質；化学工業原料；プラスチック；溶媒；燃料又は他の有機ポリマー；乳酸；例としてバイオ燃料の燃料エタノール及び／又は燃料ブタノールを含むブタノール及び／又はエタノール；酢酸、クエン酸、コハク酸及びマレイン酸を含む有機酸；少なくとも部分的にバイオディーゼル製造のために使用され得る微生物脂質又は油；ならびに／あるいはプロテアーゼ、セルラーゼ、アミラーゼ、グルカナーゼ、ラクターゼ、リパーゼ、リアーゼ、オキシドレダクターゼ、トランスフェラーゼ及びキシラナーゼなどの工業用酵素が含まれる。

【0092】

したがって、この態様の方法は、酸、アルカリ、薬剤及び／又はこの方法からの副産物（例えば、ポリオール、グリセロール残渣及びこの方法から製造された製品）を任意選択的に含む、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を、限定されないが、エタノール生成細菌、酵母又はそれらの組合せを含む微生物と接触（例えば糖化）させるステップをさらに含んでなってもよい。接触は、約2～約9の範囲のpHで生じ得る。部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料は、次いで、発酵性糖及び／又はバイオ燃料（例えば、エタノール及び／又はブタノール）製造のために加工されてもよい。

10

【0093】

追加的に、この態様の方法は、酸、アルカリ、薬剤及び／又はこの方法からの副産物（例えば、ポリオール、グリセロール残渣及びこの方法から製造された製品）を任意選択的に含む、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を、限定されないが、細菌、酵母、真菌類、藻類、カビ又はそれらの組合せを含む微生物、好適には、オイル生成微生物と接触させて、1種以上の微生物脂質を製造するステップをさらに含んでなってもよい。

20

【0094】

認識されるであろう通り、真核生物酵母、カビ及び極小藻類は、植物油の組成と同様であるトリアシルグリセロール（TAG）などの脂質を合成することができ、原核細菌は特定の脂質を合成することができる。多くのオイル生成微生物は、次いでバイオディーゼル製造を含む様々な下流用途のための材料として使用され得る油、特にTAGを蓄積することができる。

【0095】

好適には、発酵生成物は、エタノール及びブタノールからなるリストから選択される。

30

部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料の酵素加水分解の後、生成物（例えば、発酵性糖、エタノール、ブタノールなど）は、液体、スラリー、固体あるいはゲルから分離され得る。加えて、ポリオール、アルカリ及び／又は酸は、さらなるリグノセルロース系材料の部分的に加水分解及び／又は追加的处理ステップでの再利用（すなわち、ポリオール及び／又は酸の再利用）のために、分離後に回収されてもよい。

【0096】

別の態様において、本発明は、上記された方法によって製造された発酵生成物を提供する。

別の態様において、本発明は、リグノセルロース系材料を酸及び／又はアルカリで処理するための処理チャンバーであって、リグノセルロース系材料を、ポリオールを含んでなるか、それからなるか、又はそれから本質的になる薬剤で処理するための消化チャンバーと連通している、処理チャンバーを含んでなる、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を製造する装置を提供する。

40

【0097】

適切には、処理チャンバーは、リグノセルロース系材料を酸及び／又はアルカリで含浸させることができる。

特定の実施形態において、この装置は、リグノセルロース系材料を浸潤及び／又は予熱するためなど、リグノセルロース系材料を蒸気処理することができる前処理チャンバーをさらに含んでなる。

【0098】

50

いくつかの実施形態において、この装置は、液体フラクションから、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料をその少なくとも一部において分離するための分離器をさらに含んでなる。

【0099】

特定の実施形態において、この装置は、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料を、それからの酸、アルカリ及び／又はポリオール of の少なくとも部分的な除去を促進するように洗浄することができる洗浄デバイスをさらに含んでなる。好適には、洗浄デバイスは、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料の連続向流洗浄を促進するために適合されたベルト真空フィルター又は歩行重力洗浄テーブルである。

【0100】

適切には、この装置は、上記方法における使用のためのものである。

装置の好適な実施形態は図1に示される。図1を参照すると、装置10は、処理されるか、又は消化されるリグノセルロース系材料を受け取るためのインレット11を含んでなる。インレット11から、リグノセルロース系材料は、前処理チャンバー12に入る。前処理チャンバーは、それによってリグノセルロース系材料を事前に湿潤させ、かつ予熱するために低圧力蒸気が適用されるように設計されている。事前に湿潤させ、かつ予熱されたリグノセルロース系材料は、次いで、導管17を介して典型的に重力供給方式によって処理チャンバー14に輸送され、その後、そこで高圧蒸気によって酸及び／又はアルカリで含浸させる。代わりに、リグノセルロース系材料は、回転弁13によって装置10に入ってもよく、それによって前処理チャンバー12の前蒸気処理／前湿潤プロセスが回避される。

【0101】

装置10は、ポリオール、特にグリセロールを含んでなる薬剤でリグノセルロース系材料を処理又は消化するための消化チャンバー16を含んでなる。消化チャンバー16は、使用者の規定温度及び／又は圧力下で導管19を介して処理チャンバー14から重力供給された酸及び／又はアルカリ処理されたリグノセルロース系材料を消化又は処理するように設計されている。好適には、消化チャンバー16は、低い液体対固体比においてリグノセルロース系材料を消化又は処理するために適合され、かつ緩衝剤を有する回転ドラムを含んでもよい。この点に関して、消化チャンバー16は、リグノセルロース系材料にグリセロールなどの液体を噴霧するための複数のノズルを含み得る。別の実施形態において、導管17及び／又は19は、上記のリグノセルロース系材料の移動を容易にするベルトコンベヤなどのコンベヤ又はスクリーオーガを含んでなるか、又はそれによって置き換えられ得ることも理解されるであろう。

【0102】

図1から分かるように、装置10は、物理的に、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料（すなわち、固体フラクション）をプレスすることなどによって、いずれかの残留液体フラクションからの消化リグノセルロース系材料の分離を促進するために配置された分離器18をさらに含む。分離器18を通過した後、消化されたリグノセルロース系材料は、消化チャンバー16でリグノセルロース系材料に添加されるグリセロールなどのいずれかの薬剤、特に液体薬剤から少なくとも部分的に分離され得る。

【0103】

図1に示されないが、コンベヤは、前処理チャンバー12、蒸気処理チャンバー14、消化チャンバー16及び分離器18を含む装置10の蒸気チャンバーを通して、及びその間を望ましい速度でリグノセルロース系材料を移動させるために使用される。さらに、コンベヤは、リグノセルロース系材料を次のチャンバー上に移動させる前に、それぞれのチャンバーで必要とされる滞留時間を達成するように、使用者が決定した速度で操業され得る。

【0104】

分離器18での分離後、固体フラクションは、洗浄デバイス100によってさらに洗浄されてもよく、その実施形態は図2に提供される。図2を参照すると、部分的に加水分解

10

20

30

40

50

されたりグノセルロース系材料は、最初に、洗浄デバイス100を通して望ましい速度で上記材料を移動させるコンベヤ105上に供給される。好適には、洗浄デバイス100を通過後、部分的に加水分解されたりグノセルロース系材料は、上記材料の下流糖化に適切な固体：液体比を含んでなる。

【0105】

洗浄デバイス100を通して移動すると、部分的に加水分解されたりグノセルロース系材料は、スプレー111、112、113、114、115、116によって進歩的にコンベヤ105上で洗浄される。スプレー111、112、113、114、115、116は、部分的に加水分解されたりグノセルロース系材料上に水又は洗浄溶液を送達し、その後、水又は洗浄溶液はその上から排水され、重力又は真空によって（真空ポンプは示さず）それらのそれぞれの回収トレイ121、122、123、124、125、126中へ回収される。図2で観察されるように、「新鮮な」水及び／又は洗浄溶液がスプレー111によって提供され、その後、それは最終回収トレイ121に入り、部分的に加水分解されたりグノセルロース系材料の洗浄デバイス100を通じた移動をフローカウントする。

10

【0106】

この点に関して、回収トレイ121、122、123、124、125で回収された水及び／又は洗浄溶液は、次いで、パイプ又は導管131、132、133、134、135を通してそれぞれのスプレーに112、113、114、115、116にポンプで戻される。このように、洗浄デバイス100は、部分的に加水分解されたりグノセルロース系材料の連続向流洗浄によって、最小の水及び／又は洗浄溶液の使用によって、酸、アルカリ、ポリオール及び／又は溶質をリグノセルロース系材料から部分的又は完全に除去することを可能にする。回収トレイ126に回収された水及び／又は洗浄溶液は、典型的に、部分的に加水分解されたりグノセルロース系材料から洗浄されたポリオール、酸、アルカリ、溶質などの最高濃度を含有し、これはその後、パイプ136によって除去される。したがって、最もクリーンな又は最も新鮮な水及び／又は洗浄溶液は、「最もクリーンな」部分的に加水分解されたりグノセルロース系材料と接触し、より汚染された水及び／又は洗浄溶液は、部分的に加水分解されたりグノセルロース系材料と、それが洗浄デバイス100に入った直後に接触する。水及び／又は洗浄溶液のこの再利用方法は、全ての洗浄段階でクリーンな水及び／又は洗浄溶液が供給される従来の洗浄方法とは反対である。

20

30

【0107】

本発明が容易に理解及び実施され得るように、以下に特定の好適な実施形態が非限定的な例として記載される。

（実施例）

実施例1

実施例1の目的は、以前に記載されたグリセロール及び硫酸の組合せでリグノセルロース系材料を前処理する方法（例えば、チャン（Zhang）ら、バイオリソーステクノロジー（Bioresource Technology）、2013年）を評価することであった。

材料及び方法

40

連続水平消化器（アンドリッツ（Andritz）418気密式水平消化器／コンベヤ）においてサトウキビバガスを前処理した。異なるグリセロール：「そのままのバガス（as is bagasse）」の比率ならびに消化器温度及び圧力を評価した。グリセロール及び硫酸の組合せを含む溶液による消化の後、バガスは、前処理されたバガスの固体及び液体相（加水分解物）の分離のためにスクリープレス（アンドリッツ（Andritz）モデル560プレサファイナー（Pressafiner））を通して脱水された。

【0108】

簡単には、原料バガスが最初に計量され、次に圧力下で418消化器システムに供給された。システムに入ると、バガス上に斜めにグリセロール及び硫酸を噴霧するために2つ

50

の射出ノズルがあった。望ましい製造速度の確立のため、液体の流れは、所望のグリコール対「そのままの」バガス比を達成するために望ましいフロー速度でポンプ供給された。タンクに添加された硫酸の重量は、必要に応じてO. D. バガス上で約1%～1.1%の適用を得るように調整された。次いで、バガスは、消化器で必要とされる滞留時間を達成するために望ましい速度で消化器を通してコンベヤベルト上で移動された。消化後、前処理されたバガスは、次いで8：1の体積測定圧縮比において560プレサファイナー（Pressafiner）に移動された。プレサファイナー（Pressafiner）は、その全ての含有量が脱水され、全ての加水分解物が回収されるまで操作された。さらなる分析及びそれに続く酵素消化（加水分解）のため、それぞれの試験品からの固体及び液体フラクションを回収した。前処理された固体（洗浄された）は、アルファセルロース、カップ価、灰分%、炭水化物含有量、酸不溶解性リグニン含有量及び酵素糖化に関して試験された。加水分解物試料は、炭水化物含有量、酸溶解性リグニン含有量、灰分%及び分解生成物に関して試験された。

10

【0109】

418消化器システムにおける6つの個々の前処理条件をバガス上で試験し、これらを以下の表1で概説する。特に、表1は、A1～A6に関するグリセロール：「そのままのバガス」比、硫酸適用、消化器滞留時間及び操作圧力を提供する。消化器スループット及び平均繊維長さも、それぞれ表1及び3に含まれる。

【0110】

【表1】

20

表1 - 消化器操作条件および化学的適用

処理群	温度(°C)	固体対液体比	O. D. バガスにおける硫酸%	滞留時間(分)	消化器圧力(バール)	スループット(ODMT/D)
A1	130	3.3	1.1	20	1.7	3.7
A2	160	2.8	0.92	20	5.2	4.4
A3	160	3.1	1.04	30	5.2	3.1
A4	130	4.1	1.05	30	1.7	3.2
A5	160	4.2	1.08	30	5.2	3.1
A6	160	2.1	1.04	30	5.2	3.2

30

結果

蒸気試験の実行時、以前に記載された前処理方法における多くの問題が明らかになった。特に、上記チャン（Zhang）らにおいて記載された130℃の消化器温度は、適切な繊維破壊を供給しなかった。160℃のより高い消化器温度は、この点に関して繊維反応性の改善を提供した。さらに、相対的に低い製造速度が、主としてその低い密度に起因するバガスによって達成された。そのようなものとして、バガスの材料取り扱い、商業的製造の規模まで拡大するために重要な障害を表す。

40

【0111】

【表 2】

表2 — 洗浄、前処理された固体のカッパ、灰、粘度およびアルファセルロース

処理群	カッパ価	灰、%	アルファ セルロース、 %(混合器)	アルファ セルロース、 %(攪拌棒)	亜塩素 酸化粘度、 mPa [*] s
未処理バガス	-	9.89	-	-	-
A1	81.0*	5.93	60.7	NM	NM
A2	106*	7.65	71.1	74.1	13.7
A3	118*	7.36	74.7	77.8	13.1
A4	81.0*	6.27	62.1	62.3	16.0
A5	112*	7.28	73.5	77.4	17.0
A6	124*	8.94	77.4	77.9	12.7

【 0 1 1 2 】

【表 3】

表3 - 洗浄、前処理された固体フラクシヨンの炭水化物組成

処理群	平均 繊維 長さ (mm)	アラビナン (%)	ガラクトタン (%)	グルカン (%)	キシラン (%)	マンナン (%)	ヘミ(%)	全 炭水化物 (%)	ヘミ/全	酸溶性 リグニン (%)	酸不溶性 リグニン (%)	酸不溶性 残渣 (%)
未処理 バガス	ND	01.9	0.6	41.1	22.1	0.8	25.3	66.3	0.38	3.8	18.9	6.4
A1	0.48	1.2	0.4	43.0	20.1	0.6	22.4	65.4	0.34	3.9	19.8	4.0
A2	0.47	0.8	0.3	48.5	15.9	0.6	17.6	66.2	0.27	3.4	19.5	5.8
A3	0.50	0.7	0.3	50.0	15.2	0.6	16.8	66.9	0.25	3.1	19.5	5.5
A4	0.45	1.0	0.4	44.8	20.8	0.6	22.8	67.6	0.34	3.4	19.5	4.5
A5	0.52	0.7	0.3	49.6	15.1	0.6	16.7	66.2	0.25	3.3	19.0	6.0
A6	0.49	0.6	0.3	49.3	11.9	0.6	13.4	62.7	0.21	3.6	20.6	7.2

【0 1 1 3】

10

20

30

40

【表 4】

表4 - 洗浄、前処理された液体フラクションの炭水化物組成

処理群	アラビノース (mg/L)	ガラクトース (mg/L)	グルコース (mg/L)	キシロース (mg/L)	マンノース (mg/L)	ヘミ (mg/L)	全 炭水化物 (mg/L)	ヘミ/ 全	酸溶性 リグニン (%)
A1	412	147	576	1112	ND	1670	2246	0.74	0.2
A2	786	217	973	4951	148	6103	7075	0.86	0.4
A3	688	267	915	4800	201	5956	6871	0.87	0.4
A4	309	120	382	954	117	1501	1883	0.80	0.3
A5	590	207	702	3859	134	4790	5492	0.87	0.4
A6	1110	367	1404	8200	199	9875	11279	0.88	0.5

【表 5】

表5 — Ctec 3セルラーゼ(HPLC)によるグルカンからグルコースへの酵素加水分解

グルコース(ppm)転換率	0hr	6hr	24hr	52hr	72hr	168hr	SAC pH	収率 (%)	収率 ¹⁶⁸ (%)	STD _e	収率 ⁷² (%)	STD _e
ブランク	374	407	356	417	433	374	5.01	#DIV/0!				
SRP	1414	13556	19246	18943	16510	18998	4.93	83.82%	83.82%	0.00%	72.35%	0.00%
	5%	59.18%	85.01%	83.38%	72.35%	83.82%						
A1: 3.3 Gly; 1.1 H ₂ SO ₄	1306	6018	6140	7695	7936	8549	4.85	36.81%	36.82%	0.02%	33.78%	0.02%
				7687	7941	8556	4.84	36.84%			33.80%	
A1: 3.3 Gly; 1.1 H ₂ SO ₄	4%	25.26%	26.04%	32.75%	33.79%	36.82%						
A2: 2.8 Gly; 0.92% H ₂ SO ₄	1530	12536	15468	15333	15576	16438	4.78	72.27%	73.04%	1.09%	68.13%	0.81%
				15553	15830	16781	4.79	73.81%			69.27%	
A2: 2.8 Gly; 0.92% H ₂ SO ₄	5%	54.57%	67.99%	67.60%	68.70%	73.04%						
	1282	12954	15480	16017	16178	17128	4.78	75.42%	75.08%	0.49%	70.88%	3.43%
A3: 3.1 Gly; 1.04 H ₂ SO ₄				15994	15099	16975	4.80	74.73%			66.02%	
A3: 3.1% Gly; 1.04 H ₂ SO ₄	4%	56.48%	68.08%	70.17%	68.45%	75.08%						
	1456	6214	7004	8503	8506	9578	4.82	41.43%	40.70%	1.03%	36.34%	0.31%
A4: 4.1 Gly; 1.05% H ₂ SO ₄				8236	8408	9255	4.82	39.97%			35.90%	
A4: 4.1% Gly; 1.05% H ₂ SO ₄	5%	26.14%	29.92%	35.79%	36.12%	40.70%						
	1651	12355	15226	16119	16372	16895	5.00	74.33%	74.52%	0.27%	71.71%	0.34%
A5: 4.2 Gly; 1.08% H ₂ SO ₄				15159	16265	16980	4.80	74.71%			71.23%	
A5: 4.2% Gly; 1.08% H ₂ SO ₄	6%	53.75%	66.90%	68.48%	71.47%	74.52%						
	1909	14624	17172	18156	18483	18981	4.91	83.77%	84.45%	0.97%	81.26%	0.64%
A6: 2.1 Gly; 1.04% H ₂ SO ₄				17044	18684	19286	4.88	85.14%			82.17%	
A6: 2.1% Gly; 1.04% H ₂ SO ₄	7%	64.00%	75.70%	77.36%	81.71%	84.454%						

【表 6】

表6 — Ctec 3セルラーゼ (HPLC)によるキシランからキシロースへの酵素加水分解

キシロース(ppm)転換率	0hr	6hr	24hr	52hr	72hr	168hr	収率 (%)	収率 avg	STDev
ブランク	252	298	294	272	316	229	0.00		
SRP対照群	418	1668	2599	2950	3107	3656	131%	130.84%	
SRP対照群	6%	52%	88%	102%	107%	131%			
A1: 3.3 Gly; 1.1 H ₂ SO ₄	472	1901	2132	2565	2794	2950	23%	23%	0%
A1: 3.3 Gly; 1.1 H ₂ SO ₄	472			2612	2839	2992	24%		
A1: 3.3 Gly; 1.1 H ₂ SO ₄	0.00%	13.43%	15.60%	19.89%	22.04%	23.49%			
A2: 2.8 Gly; 0.92% H ₂ SO ₄	543	2896	3740	3783	4038	4291	50%	51%	0%
A2: 2.8 Gly; 0.92% H ₂ SO ₄	543			3809	4080	4337	51%		
A2: 2.8 Gly; 0.92% H ₂ SO ₄	0.00%	31.58%	42.91%	43.66%	47.19%	50.61%			
A3: 3.1 Gly; 1.04 H ₂ SO ₄	492	3020	3847	3962	4259	4382	56%	56%	1%
A3: 3.1 Gly; 1.04 H ₂ SO ₄	492			3920	3949	4323	55%		
A3: 3.1 Gly; 1.04 H ₂ SO ₄	0.00%	36.56%	48.52%	49.88%	52.23%	55.83%			
A4: 4.1 Gly; 1.05% H ₂ SO ₄	489	2119	2452	2949	3140	3489	28%	29%	0%
A4: 4.1 Gly; 1.05% H ₂ SO ₄	489			3024	3304	3559	29%		
A4: 4.1 Gly; 1.05% H ₂ SO ₄	0.00%	15.45%	18.60%	23.67%	25.90%	28.77%			
A5: 4.2 Gly; 1.08% H ₂ SO ₄	676	3225	4196	4385	4697	4945	62%	60%	2%
A5: 4.2 Gly; 1.08% H ₂ SO ₄	676			4146	4693	4770	59%		
A5: 4.2 Gly; 1.08% H ₂ SO ₄	0.00%	36.84%	50.88%	51.88%	58.09%	60.44%			
A6: 2.1 Gly; 1.04% H ₂ SO ₄	521	3049	3758	3966	4298	4422	72%	72%	0%
A6: 2.1 Gly; 1.04% H ₂ SO ₄	521			3767	4371	4445	72%		
A6: 2.1 Gly; 1.04% H ₂ SO ₄	0.00%	46.49%	59.53%	61.53%	70.14%	71.96%			

実施例 2

この試験の目的は、以前に記載されたリグノセルロース系材料のためのそれらの前処理方法を改善する試みにおいて、3種の異なる基質、バガス、ベイモミ木片及びユーカリノキ (*Eucalyptus globulus*) 木片に適用された異なるグリセロール及び硫酸処理を評価することであった。

材料及び方法

バガスを含む試験品について、バガスは、プラグスクリー供給機を使用して、直接、418 水平気密式消化器に供給され、その中にグリセロール及び硫酸の両方がインレットにおいて消化器に添加された。このプロセスは、実施例 1 に記載されたものと同様であった。この試験では、蒸気含浸はバガス上では実行しなかった。しかしながら、後の試験結果では、バガスの三での消化前の有効な含浸を示した。

【0116】

モミ木片及びユーカリ木片を含む試験品について、418 水平気密式消化器に供給される前に、木片は初めに圧縮され、脱構造化され、アンドリッツ（Andritz）560 GS インプレサファイナー（Impressafiner）において水又は硫酸のいずれかによって含浸された。次いで、グリセロールは、硫酸の有無にかかわらず、それから消化器にインレットにおいて含浸木材チップに添加された。初期チップ脱構造化及び含浸は、前処理プロセスの間により良好にそれらの繊維構造を浸透させる試みにおいて、木材基質上で実行された。

【0117】

表 7 は、バガス、モミ及びユーカリ材料の前処理試験のそれぞれの反応パラメーターを提供する。全ての試験品に関して 418 消化器における反応時間は 30 分であった。

【0118】

【表 7】

表 7 - 消化器操作条件および化学的適用

試験品 番号	材料	含浸	消化器に おいて 添加された H ₂ SO ₄	グリセ ロール： そのままの 基質	O. D. 木材に おける 硫酸%	418 消化器 への 液体フロー (gmp)	消化温度(°C)	消化器 圧力 (バール)
A1	バガス	なし	あり	3.0	2.3	2.4	130	1.7
A2	バガス	なし	あり	3.0	2.3	2.4	160	5.2
A3	バガス	なし	あり	2.0	1.5	1.6	160	5.2
A4	バガス	なし	あり	1.0	1.4	0.8	160	5.2
A5	モミ	あり(水)	あり	0.6	1.5	1.0	160	5.2
A6	モミ	あり(H ₂ SO ₄)	なし	0.6	1.5	1.0	160	5.2
A7	モミ	あり(H ₂ SO ₄)	なし	0.6	1.0	1.0	160	5.2
A8	ユーカリ	あり(H ₂ SO ₄)	なし	1.0	1.0	1.0	160	5.2
A9	ユーカリ	あり(H ₂ SO ₄)	なし	1.0	0.5	1.0	160	5.2
A10	ユーカリ	あり(H ₂ SO ₄)	なし	0.5	0.5	0.5	160	5.2
A11	ユーカリ	あり(H ₂ SO ₄)	なし	0.0	0.5	1.0	160	5.2

A6～A11 がその中でさらなる硫酸を受け取らなかったことを除いて、418 消化器での消化は、実施例 1 に記載されたものと同様に実行された。消化後、固体及び液体フラクションがさらなる分析及びその後の酵素消化（加水分解）のために回収されることができるよう、特定の試験品（A1～A5、A8～A11）からの前処理された試料を 560 プレサファイナー（Pressafiner）に移した。前処理された固体（洗浄された）は、アルファセルロース、カップ価、灰分%（表 10）、炭水化物含有量、酸不溶性リグニン含有量（表 11）及び酵素糖化（表 13）に関して試験された。加水分解物試料は、炭水化物含有量及び酸溶解性リグニン含有量に関して試験された（表 12）。全てのパルプは、カナダ標準ろ水度、L & W 繊維試験、バルク密度及び固体含有量を含む標準 Tappi 手順によってさらに試験された。

【0119】

酵素糖化に関して、NREL エンザイマティック・サッカリフィケーション・オブ・リグノセルローシク・バイオマス・ラボラトリー・アナリティカル・プロシージャ（NREL Enzymatic Saccharification of Lignoc

l l u l o s i c B i o m a s s L a b o r a t o r y A n a l y t i c a l P r o c e d u r e)、M. セリグ (M. S e l i g)、N. ウェイス (N. W e i s s) 及び Y. ジ (Y. J i) 著、N R E L / T P - 5 1 0 - 4 2 6 2 9、2 0 0 8 年 3 月 に 記 載 され る も の と 同 様 の 実 験 条 件 が 適 用 さ れ た。こ の 手 順 に よ っ て、最 大 の 酵 素 装 填 に 基 づ く 所 定 の 前 処 理 の 有 効 性 を 測 定 し、理 論 的 収 量 の 百 分 比 と し て 報 告 さ れ る。使 用 さ れ た セ ル ラーゼ 酵 素 カクテル は、表 1 3 で 報 告 さ れ た 初 期 試 料 に 適 用 さ れ た 2 % セ ル ロース 重 量 装 填 に お い て 2 0 F P U / g セ ル ロース の セ リ ック (C e l l i c) (登 録 商 標) C T e c 3 (セ リ ック (C e l l i c) (登 録 商 標) C T e c 3 は、ノボザイムス (N o v o z y m e s) の 登 録 商 標 で あ る) で あ る。

【0120】

試料 A 2 (バガス前処理バイオマス) 及び A 8 (ユーカリ (E u c a l y p t) 前処理バイオマス) として作成された材料は、酵素加水分解に対するバイオマス固体装填の増加の効果を観察するためにさらに評価された。5. 0 の pH 及び 5 0 °C の温度が最適反応条件であった。2 0 m g / グルカン酵素量が試験された。

結果

3 種のリグノセルロース系基質における上記の試験から、消化又は反応の程度は主として添加された硫酸の割合によって影響を受けた。したがって、リグノセルロース系基質に対するグリセロールの量は、視覚評価に従って、消化された材料におけるいずれの明白な影響もなく有意に減少させることができた。したがって、前処理反応は、消化器内に液体がわずかにあるか、又は全くないように、極めて低い液体対固体比において問題なく行なわれた。例えば、ユーカリ木片は、木片上酸 0. 7 % 及び 0. 3 k g / k g グリセロール / 木片において極めて良好に反応し、これは、0. 2 4 : 1 のみの消化のための液体対固体比を表す。

【0121】

バガスに関して、2. 4 % 酸において 1 3 0 °C は、1 6 0 °C で消化されたバガスと比較して、依然として繊維を完全に反応させず、実施例 1 で見られたものを強化する。1 6 0 °C 及び 2. 4 % 酸におけるバガスの消化は、プレスができない泥状材料をもたらし、基質が完全に反応したことを示す。消化器中の酸を減少させることによって、いくつかの繊維が保持されたが、消化されたバガスはいっそう容易にプレスされた。

【0122】

興味深いことに、木片がインプレサファイナー (I m p r e s s a f i n e r) に よ っ て 硫 酸 で 含 浸 さ れ た モ ミ 試 験 品 (A 6 : 1. 5 % 酸、0. 6 グリセロール比) に関して、硫酸が消化器に添加されたモミ試験品 (A 7 : 1. 5 % 酸、0. 6 グリセロール比) に関するより低い水度が観察された (表 9)。これは、グリセロールによる消化及び処理前に酸で含浸された木片が、酸によって含浸されていないが、酸及びグリセロールの組み合わせた溶液で消化されたものよりも良好に反応したことを示唆する。そのようなものとして、消化ステップにおけるグリセロールの添加前に硫酸によるリグノセルロース系材料の含浸は、消化器へグリセロールと同時に酸を添加することより優れていた。

【0123】

ユーカリ試験品は、グリセロール適用における有意な減少が、リグノセルロース系基質の消化に影響を及ぼさずに可能であることを示唆する。しかしながら、前処理反応から完全にグリセロールを排除すること (A 1 1 : 0. 5 % 酸) は、最も高い水度を示し、これは、より低い消化反応度を示す。類似の酸濃度で、しかしグリセロールを用いて行なわれたユーカリ試験品 (A 1 0 : 0. 5 % 酸、0. 3 グリセロール比) は、有意により低い水度 (1 5 9 m L 対 4 6 7 m L) を有し、これは、より高い反応度を示している。さらに、A 1 0 材料の A 1 1 材料と比較した酵素消化は、連続するプロセスにおけるグリセロールの影響を支持し、7 2 時間でのグルコース収率に 7. 0 8 % の差を示した (A 1 0 = 9 4. 8 2 % S T D e 0. 4 6 % ; A 1 1 = 8 7. 7 4 % S T D e 0. 8 0 %)

酵素加水分解に対する増加したバイオマス固体の影響に関しては、2 % から 1 0 % への固体充填は、消化率と、グルカンからグルコースへの転換率 (表 1 5) とに悪影響は及ぼ

10

20

30

40

50

さなかった。このことは、結果的に生じるバイオマス及びそれらの発酵性糖への転換の工業的要素の面で重要な特徴である。

【0124】

【表8】

表8 — 材料特徴

リグノセルロース系 材料	%O. D. 固体(%)	バルク密度 — 湿潤(kg/m ³)	バルク密度 — 乾燥 (kg/m ³)
浸漬されたモミ	70.0	179.42	125.60
ユーカリ	81.8	224.28	183.46
浸漬されたユーカリ	58.8	320.40	188.40
バガス	57.5	86.51	49.74

10

【0125】

【表9】

表9 — 反応概要

試験品番号	材料	ろ水度(CSF)	精製 エネルギー (kWh/ODMT)	平均繊維 長さ(mm)
A1	バガス	325	38	0.51
A2	バガス	69	68	0.44
A3	バガス	92	60	0.46
A4	バガス	149	51	0.46
A5	モミ	457	31	0.45
A6	モミ	294	17	0.33
A7	モミ	195	18	0.36
A8	ユーカリ	132	12	0.42
A9	ユーカリ	189	11	0.42
A10	ユーカリ	159	18	0.40
A11	ユーカリ	467	17	0.44

20

30

【0126】

【表10】

表10 — 洗浄、前処理された固体のカッパ、灰、粘度およびアルファセルロース

試料の説明	そのままの カッパ価	粉碎後の カッパ価	灰、%	アルファ セルロース、% (混合器)	亜塩素 酸化粘度、 mPa*s
ユーカリ浸漬	NR	NR	0.41	NR	NR
モミ	NR	NR	0.12	NR	NR
洗浄したA1	122.0	141.0	9.75	70.4	11.4
洗浄したA2	133.8	108.2	13.7	77.7	4.35
洗浄したA4	164.0	148.1	11.1	71.0	8.33
洗浄したA7	117.3	170.1	0.04	24.0	3.89
洗浄したA8	146.5	171.4	0.09	74.7	7.02
洗浄したA9	148.1	163.3	0.07	72.3	10.8
洗浄したA10	146.1	164.2	0.08	75.3	9.37
洗浄したA11	109.1	151.4	0.13	70.4	14.2

40

【0127】

50

【表 1 1】

表11 - 固体炭水化物

記述名	アラビナン (%)	ガラクトタン (%)	グルカン (%)	キシラン (%)	マンナン (%)	ヘミ (%)	全 炭水化物 (%)	ヘミ/ 全	酸溶性 リグニン (%)	酸不溶性 リグニン (%)	酸不溶性 残渣 (%)
ユーカリ浸漬	0.3	1.3	44.1	14.0	1.0	16.5	60.7	0.27	4.4	22.2	0.0
モミ	1.1	2.3	43.8	5.3	12.3	21.0	64.8	0.32	0.4	29.5	0.0
A1	0.5	0.2	46.3	12.3	0.2	13.2	59.5	0.22	1.5	21.6	7.5
洗浄したA2	0.2	<0.1	52.1	4.3	0.1	4.7	56.8	0.08	1.1	21.4	10.4
A4	0.5	<0.1	46.2	10.1	0.1	10.8	57.1	0.19	1.4	24.7	8.4
洗浄したA7	<0.1	0.2	52.8	1.3	1.2	2.7	55.5	0.05	0.3	40.2	0.0
洗浄したA8	<0.1	<0.1	60.5	2.7	0.4	3.2	63.7	0.05	1.9	29.8	0.0
洗浄したA9	<0.1	0.1	56.5	3.6	0.6	4.3	60.8	0.07	2.2	28.1	0.1
A10	<0.1	0.1	60.2	3.3	0.4	4.0	64.1	0.06	2.3	28.8	0.0
洗浄したA11	<0.1	0.2	55.3	4.8	0.6	5.7	61.0	0.09	2.6	27.5	0.0

【0 1 2 8】

10

20

30

40

【表 1 2】

表12 - 液体炭水化物

記述名	アラビノース (mg/L)	ガラクトース (mg/L)	グルコース (mg/L)	キシロース (mg/L)	マンノース (mg/L)	ヘミ (mg/L)	全 炭水化物 (mg/L)	ヘミ/全	酸溶性 リグニン (%)
A1圧搾液	1665	633	4645	14781	300	17379	22023	0.79	0.4
A2ろ液	809	275	1663	7761	132	8977	10640	0.84	0.4
2196-2P4圧搾液	2427	4491	5112	8200	14170	29288	34400	0.85	0.3
A5圧搾液	200	830	489	8898	440	10368	10857	0.95	0.1
A11圧搾液	935	3994	2974	41863	2159	48950	51924	0.94	0.4

表13 - Ctec 3セルラーゼ (HPLC)によるグルカンからグルコースへの酵素加水分解

Time (h)																		
	0	6	24	48	72	168	SAC pH	収率 (%) #DIV/0!	収率 ₁₆₈ (%)	STD _e	収率 ₇₂ (%) #DIV/0!	収率 ₇₂ (%)	STD _e					
グルコース(ppm)転換率	0																	
プランク	270	238	292	241	258	295	4.93											
SRP	1568	14249	19874	21127	20597	20213	4.89		89.64%	0.00%		91.53%	0.00%			91.53%		0.00%
		6%	63.06%	83.13%	94.00%	89.64%												
A2	3851	22342	23707	23130	22967	21433	4.87		95.11%	0.21%		102.18%	0.21%			101.78%		0.56%
A2				23624	22790	21498	4.90		95.40%			101.38%						
				104.10%	101.78%	95.25%												
A2	16%	99.45%	105.35%															
A4	2133	15445	17702	18384	17896	18671	4.69		81.71%	2.76%		79.39%	2.76%			77.18%		3.13%
A4				17890	16914	17805	4.71		78.82%									
A4	8%	68.45%	78.36%	80.78%	77.18%	80.76%												
A7	1853	6549	9690	13269	12926	13780	4.85		60.69%	0.99%		57.02%	0.99%			58.20%		1.68%
A7				12934	13453	13469	4.79		59.29%			59.39%						
A7	7%	28.40%	42.30%	57.88%	58.20%	59.99%												
A8	2419	18090	22093	22142	22070	22054	4.75		97.89%	2.63%		98.13%	2.63%			93.88%		6.01%
A8				20165	20181	21226	4.80		94.17%			89.63%						
A8	10%	80.31%	98.08%	94.08%	93.88%	96.03%												
A10	1943	13660	20796	20834	21396	20110	4.83		89.20%	2.58%		95.15%	2.58%			94.82%		0.46%
A10												94.49%						
				20773	21250	20921	4.82		92.85%									
A10	8%	60.42%	92.30%	92.56%	94.82%	91.02%												
A11	1611	10141	16955	18527	19642	18925	4.79		83.79%	0.11%		87.18%	0.11%			87.74%		0.80%
A11												88.31%						
A11	6%	44.54%	74.94%	83.73%	87.74%	83.87%	4.85		83.95%									

【表 1 4】

表 14 - Ctec 3セルラーゼ (HPLC) によるキシランからキシロースへの酵素加水分解

キシロース(ppm)転換率 ブランク	Time (h)							168	収率 (%)	収率 avg	STDdev
	0	6	24	48	72	168	収率 (%)				
SRP対照群	144	127	158	141	159	184	0.00				
	876	1841	2888	3563	3838	4139	151%		151.00%		
A2	28%	65%	104%	131%	141%	151%					
A2	960	1989	2327	2360	2348	2244	68%		93%		36%
				2404	2327	2245	119%				
A4	0.00%	54.51%	72.41%	75.32%	72.97%	68.04%					
A4	718	2413	2964	3393	3371	3651	58%		64%		7%
				3268	3137	3455	70%				
A4	0.00%	34.10%	45.19%	52.56%	51.02%	57.04%					
A7	271	485	585	929	893	1110	154%		172%		26%
A7				917	957	1042	191%				
A7	0.00%	39.21%	57.54%	119.48%	119.84%	147.51%					
A8	771	1062	1324	1491	1504	1631	86%		86%		1%
A8				1386	1411	1645	87%				
A8	0.00%	28.99%	55.10%	66.50%	68.40%	86.38%					
A10	784	1099	1564	1736	1814	1928	91%		127%		51%
A10				1751	1814	2058	163%				
A10	0.00%	24.96%	61.80%	76.02%	81.60%	95.79%					
A11	814	1122	1620	1958	2122	2405	81%		98%		25%
A11				1994	2102	2282	116%				
A11	0.00%	15.59%	40.81%	58.83%	65.71%	77.43%					

【表 15】

表15 固体増量及びグルカンからグルコースへの酵素転換率

	消化時間	バガス グルコースへの転換率	ユーカリ グルコースへの転換率
2%固体	6 hrs	99.45%	80.31%
10%固体	6 hrs	94%	83%
2%固体	24 hrs	98.08%	105.35%
10%固体	18 hrs	109%	103%

バガスのGlycell(登録商標)処理、2%固体(表13;A2より)

ユーカリのGlycell(登録商標)処理、2%固体(表13;A8より)

バガスのGlycell(登録商標)処理、10%固体

ユーカリのGlycell(登録商標)処理、10%固体

10

実施例 3

本試験の目的は、以前に記載されたリグノセルロース系材料の前処理方法を改善しようとする試みにおける、グリセロールによるユーカリ木片の酸含浸及び消化前のアルカリ脱アセチルを評価することであった。

20

材料及び方法

酸含浸前に脱アセチルを含む試験は、実施例 2 と類似の方法で行われたが、図 3 及び図 4 による脱アセチル前消化のステップを有した。脱アセチルは、蒸気噴射を有する再循環バッチ反応器で行なわれた。脱アセチルは、水酸化物と、リグノセルロース系材料のヘミセルロース成分に共有結合したアセテート基との化学量論的反応である。したがって、必要とされる水酸化物イオンの量は、次の方法の滴定によって決定された。ユーカリ木片を、2.83 mm (No. 7) スクリーンを通過するように粉碎した。約 250 ml の水及び数滴のフェノールフタレインを含むビーカーに、20 g の粉碎された木材(約 50 %は湿分)を入れた。この混合物を攪拌して、約 90 °C まで加熱し、及び完全な脱アセチル化を確認するために 90 分かけて終点まで 0.5 %の水酸化ナトリウムで滴定した。再循環バッチ反応器への水酸化ナトリウムの最大量を、この滴定から計算した。これによって次々に水酸化物の完了反応が確認され、及びステップ (i) 酸含浸ステップにおける適切な反応条件を達成するために必要とされる酸の量が最小化された。

30

結果

図 5 から分かるように、視覚的に A 1 (水対照) 及び A 2 (グリセロールによる) の両方が良好に反応した。I 2 含浸後の木片からのろ液は約 1.4 pH であった。A 2 (グリセロールによる) 試料は、視覚的により暗色であり、対照 A 1 試料より多く消化しているように見えた。

実施例 4

本試験の目的は、本明細書に記載される処理方法から製造された部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料からのヘキソースが豊富な糖シロップを調製することであり、そのために、部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料から糖への酵素触媒糖化又は加水分解を実証することであった。本試験のさらなる目的は、ヘキソースが豊富な糖シロップに、4 種の異なる微生物による発酵を受けさせることであり、そのために、ヘキソースが豊富な糖シロップが、微生物生育のために適切な炭素源であること(すなわち、本明細書に記載される方法以外の方法によってリグノセルロース系材料から調製された糖シロップにおいて見出され得る、成長に対する阻害剤を含んでいないこと)を実証することであった。

40

材料及び方法

418 水平気密式消化器に供給する前に、ポプラ木片を直接蒸気噴射によって最初に蒸

50

気処理し、及び次いで、圧縮されて、脱構造化され、アンドリッツ（Andritz）560 GSインプレサファイナー（Impressafiner）において硫酸で含浸させた。次いでグリセロールを、消化器へのインレットにおいて、含浸された材料に添加した。最初の木片脱構造化及び含浸は、前処理プロセスの間により良好にそれらの繊維構造を浸透させようとする試みにおいて、木材基質上で行なわれた。418水平気密式温浸器での消化後、160℃で30分間、消化されたリグノセルロース系材料をドラムに回収した。

【0132】

残留グリセロール及び溶質を除去するために、30kgの消化されたリグノセルロース系材料を140Lの精製水で洗浄した。洗浄された材料は、ステンレス鋼混合容器MV-11に添加され、かつ精製水中で懸濁され、pHを1M NaOHによって4.5に調節した。精製水を、110Lの最終体積まで添加した。懸濁液は、71℃まで加熱することによって低温殺菌され、次いで63℃まで冷却され、そこで30分間保持した。12.5Lの商業的に入手可能なセルロース酵素カクテルを懸濁液に添加し、反応器を攪拌しながら50℃で維持した。グルコース製造を経時的に監視した。

10

【0133】

糖化プロセスが完了したとみなされた時間後に、混合物を1.5barの圧力下でファインメッシュフィルターでろ過し、液体成分はパル・スプラディスク（Pall Supradisc）IIデプスフィルターを使用して研磨し、次いで67.6g/100gの粘稠度のシロップまで濃縮した。

20

【0134】

この糖シロップの一部を水及び以下の表16に示される媒体成分で希釈し、ピキア・ホルスティ（*Pichia holstii*）、出芽酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）及び大腸菌（*Escherichia coli*）の培養物を接種させた。

結果

それぞれの発酵体に関して表17～表19及び図6に示されるグルコース濃度減少及び対応する細胞密度増加は、本明細書に記載される方法によって製造されたグルコース溶液が炭素源として利用可能であることを実証する。

【0135】

30

【表 16】

表16: 発酵パラメータ

	発酵体1	発酵体2	発酵体3
有機体	P. ホルスティ(P. holstii)	出芽酵母(S. cerevisiae)	大腸菌(E. coli)
媒体(2L)	トリプトン 5g/L	トリプトン 5g/L	トリプトン 10g/L
	酵母エキス 6g/L	酵母エキス 6g/L	酵母エキス 5g/L
	MgSO ₄ ·7H ₂ O 1g/L	MgSO ₄ ·7H ₂ O 1g/L	NaCl 10g/L
	KH ₂ PO ₄ 5g/L	KH ₂ PO ₄ 5g/L	葉グルコース溶液 44ml/L
	葉グルコース溶液 44ml/L	葉グルコース溶液 44ml/L	消泡剤C 1ml/L
	消泡剤C 1ml/L	消泡剤C 1ml/L	
pH	5.5	5.5	7.0
温度	30°C	30°C	37°C
撹拌	300rpm	300rpm	300rpm
空気流量	4L/分	4L/分	4L/分

10

20

【0136】

【表 17】

表17 - ピキア・ホルスティ(Pichia holstii)

時間	グルコース	光学
(時)	濃度	密度
	(g/L)	(600nm)
0	17.25	0.002
3.7	15	0.646
6	14.13	0.724
10	12.87	0.873
21.5	0.5	17.6

30

【0137】

【表 18】

表18 - 出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)

時間 (時)	グルコース 濃度 (g/L)	光学 密度 (600nm)
0	16.24	4.4
2	14.64	5.5
4.35	8.16	6.58
6	1.16	9.56
8	0.54	13.2

10

【0138】

【表 19】

表19 - 大腸菌(*Escherichia coli*)

時間 (時)	グルコース 濃度 (g/L)	光学 密度 (600nm)
0	16.28	0.115
2	14.44	2.6
4.35	4.92	8.5
6	0.92	11.5
8	0.49	13.36

20

30

実施例 5

酵素加水分解に対するバイオマス固体装填増加及び酵素量減少の影響を観察するために、上記実施例 4 と同様の方法で調製されたグリセル (G l y c e l l、登録商標) 前処理ポプラ木片を評価した。

材料及び方法

2 つの試料が比較された。

- ・実施例 4 によるグリセル (G l y c e l l) 処理プロセス (すなわち、連続的な酸及びグリセロール処理) — バイオマス d b 上 1. 1 5 % 酸、5 5 % グリセロール
- ・希釈酸のみ — バイオマス d b 上 1. 0 7 % 酸、グリセロールなしの酵素加水分解条件
- ・1 2 m g / セルロース 1 g において 1 5 % 固体、p H 5. 5、C T E C 3 (装填によって 4 0 % より少ない酵素)

40

結果

グリセル (G l y c e l l) 前処理バイオマスの最初のセルロース糖化速度は、希釈酸前処理の速度の 3. 0 倍であった。グリセル (G l y c e l l) 前処理バイオマスからの単糖の最終収率は、希釈酸前処理の収率の 1 6 6. 6 % であった。したがって、本明細書に記載される方法によって部分的に加水分解されたリグノセルロース系材料の高い固体濃

50

縮物は、有意により低い濃度の酵素によって問題なく酵素的に加水分解され得る。

【図 1】

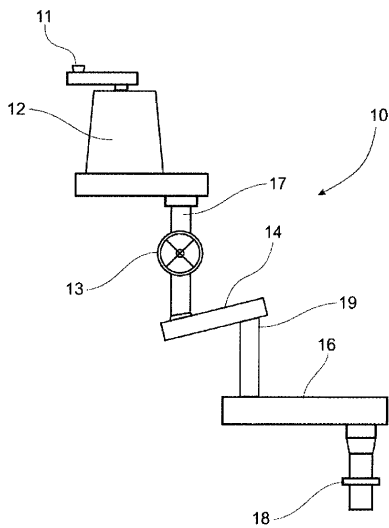
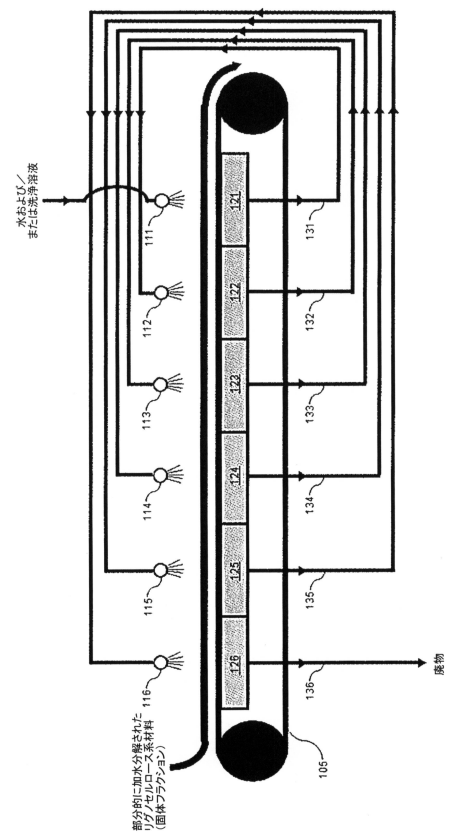
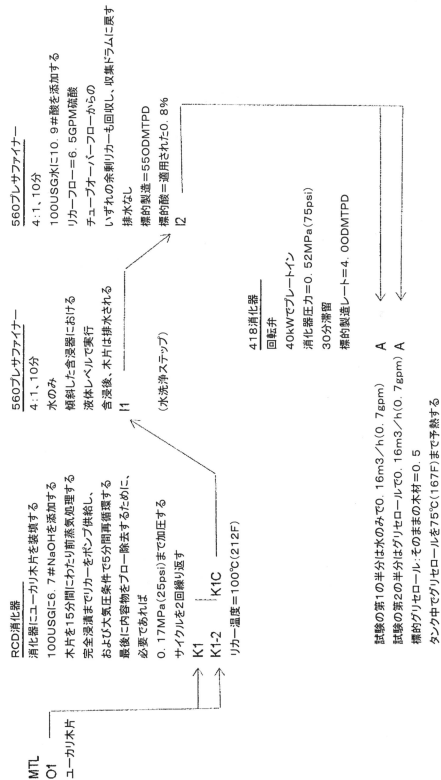


FIG. 1

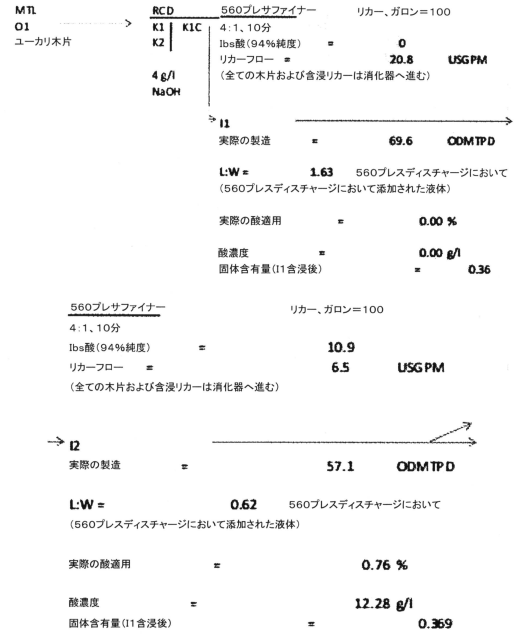
【図 2】



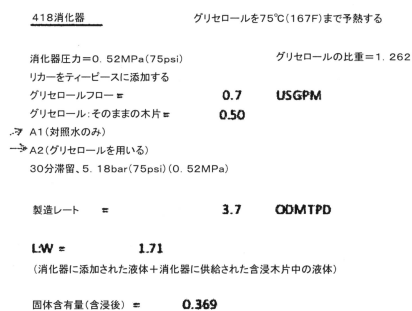
【図 3】



【図 4 - 1】



【図 4 - 2】



pHプロファイル	コンク前リカー	12.91
	K1後リカー	11.45
	K2後リカー	10.90
	平均 (K1及びK2)	11.18
11圧搾液 5.62		
11チューブ 5.10 (含浸器オーバーフローパイプ)		
11排水 5.97 (含浸木片からの排水リカー)		
良好な水洗浄のために高水流が利用された		
12前リカー (酸) 0.97	A1ろ液 2.25	
12圧搾液 5.68	A2ろ液 2.44	
12排水 1.47		

全ての酸が木片に含有されて消化器に進むように、意図的なチューブオーバーフローはなし

【図 5】

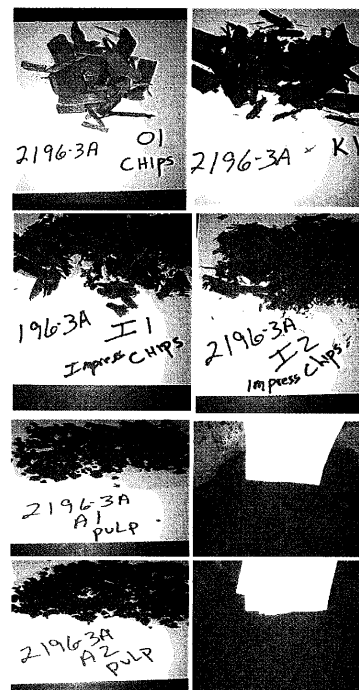
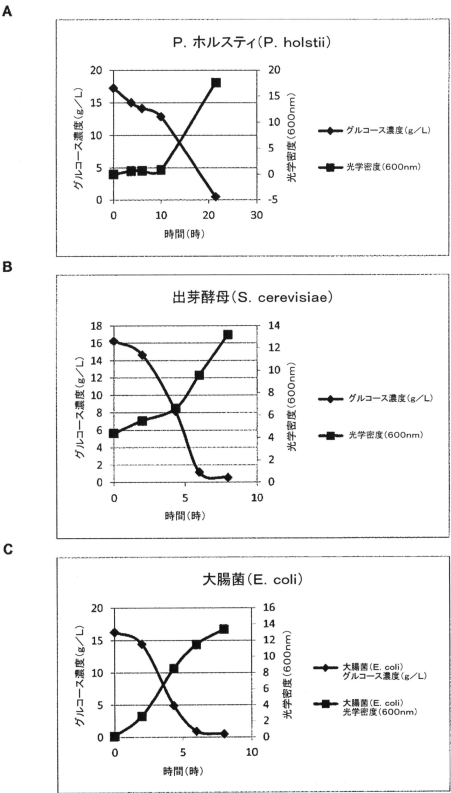


FIG. 5

【図 6】



フロントページの続き

(74)代理人 100152489

弁理士 中村 美樹

(72)発明者 ベーカー、アレックス

オーストラリア国 4 1 1 3 クイーンズランド州 エイト マイル プレインズ ブランドル
ストリート 8 8

(72)発明者 エディ、レスリー アラン

オーストラリア国 4 1 1 3 クイーンズランド州 エイト マイル プレインズ ブランドル
ストリート 8 8

審査官 佐溝 茂良

(56)参考文献 特表2008-535523 (JP, A)

英国特許出願公開第00576785 (GB, A)

米国特許出願公開第2014/0186899 (US, A1)

米国特許出願公開第2014/0093918 (US, A1)

国際公開第2010/020903 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C08B 15/00

C07H 3/02

C07H 3/04

C12P 19/02

C12P 19/12

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)