



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **116338** (13) **C2**
(51) МПК**C12P 7/16** (2006.01)**C12P 19/24** (2006.01)**C13K 1/02** (2006.01)**C12R 1/145** (2006.01)МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

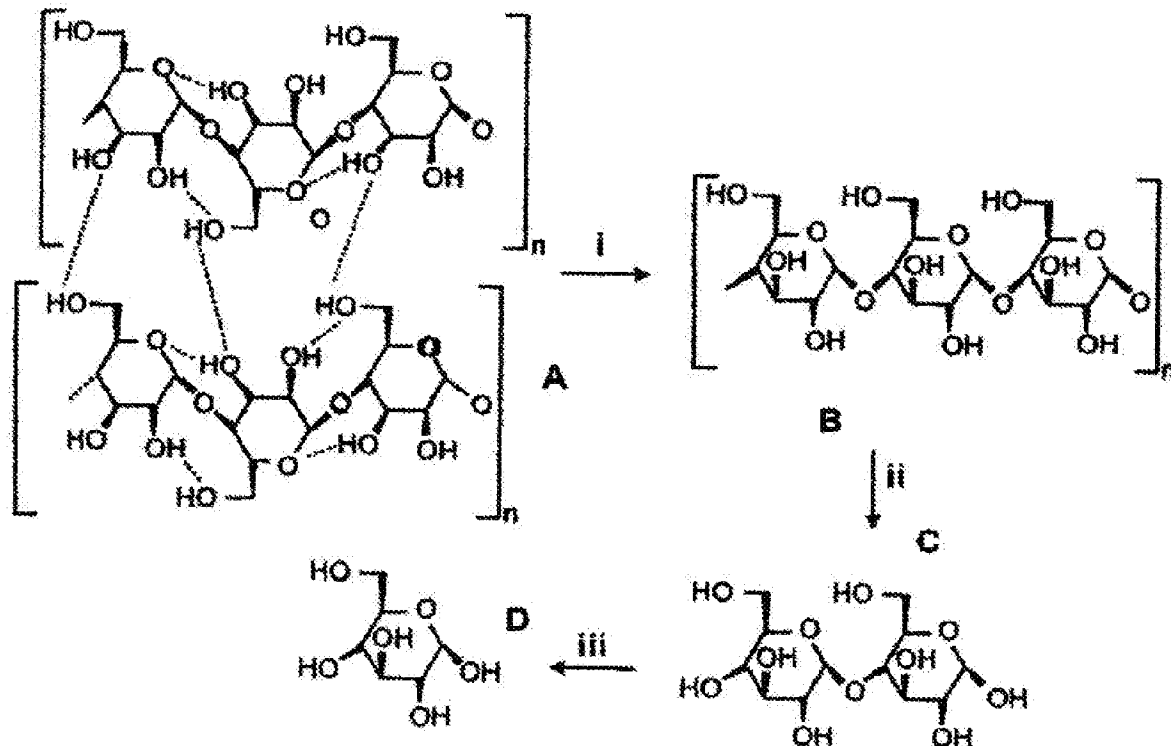
- (21) Номер заявки: **а 2014 07990**
- (22) Дата подання заявки: **20.12.2012**
- (24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **12.03.2018**
- (31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **61/579,552, 61/579,559**
- (32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **22.12.2011, 22.12.2011**
- (33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **US, US**
- (41) Публікація відомостей про заявку: **10.09.2014, Бюл.№ 17**
- (46) Публікація відомостей про видачу патенту: **12.03.2018, Бюл.№ 5**
- (86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **PCT/US2012/071097, 20.12.2012**
- (72) Винахідник(и):
**Медофф Маршалл (US),
Мастерман Томас (US),
Фінн Майкл (US)**
- (73) Власник(и):
**КСІЛЕКО, ІНК.,
360 Audubon Road, Wakefield, MA 01880,
United States of America (US)**
- (74) Представник:
**Петров Андрій Володимирович, реєстр.
№139**

- (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
LIMA ET AL. Fructose syrup: A biotechnology asset / FOOD TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, Zagreb, Croatia. - 10.2011. - vol. 49. - P. 424 - 434
JP 2001/000200 A, 09.01.2001
SHI ET AL. Large number of phosphotransferase genes in the Clostridium beijerinckii NCIMB 8052 genome and the study on their evolution / BMC BIOINFORMATICS. - 2010. - vol. 1, Suppl 11. - P. 1 - 8
WANG ET AL. Optimization of butanol production from tropical maize stalk juice by fermentation with Clostridium beijerinckii NCIMB 8052 / BIORESOURCE TECHNOLOGY. - 08.2011. - vol. 102. - P. 9985 - 9990
HUANG ET AL. Acetic acid production from fructose by Clostridium formicoaceticum immobilized in a fibrous-bed bioreactor / BIOTECHNOLOGY PROCESS. - 1998. - vol. 14. - P. 800 - 806
RODRÍGUEZ ET AL. Mannitol production by heterofermentative Lactobacillus reuteri CRL 1101 and Lactobacillus fermentum CRL 573 in free and controlled pH batch fermentations / APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. - 10.2011. - vol. 93. - P. 2519 - 2527
YU ET AL. Selective utilization of fructose to glucose by Candida magnoliae, an erythritol producer / APPLIED BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY. - 2006. - vol. 129-132. - P. 870 - 879
Kristen Miller. BIOFUEL ETHANOL PRODUCTION BY Saccharomyces bayanus, THE CHAMPAGNE YEAST. - 2010. - P. 38-42 [Інтернет-публікація] URL: http://tigerprints.clemson.edu/all_theses/985

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ СПИРТУ**UA 116338 C2**

(57) Реферат:

Винахід стосується способу одержання спирту, який включає оцукрювання целюлозної і лігноцелюлозної біомаси, приведення у взаємодію вказаної оцукреної біомаси із ксилозоізомеразою, вибраною для перетворення глюкози у фруктозу, одержання фруктози і перетворення фруктози у спирт із застосуванням мікроорганізму роду *Clostridium spp*, при цьому умови метаболізму підтримують таким чином, що вказаний мікроорганізм виробляє захисний субстрат, який захищає вказаний мікроорганізм від токсичної дії вказаного спирту, де захисний субстрат являє собою ліпід.



Фіг.1

[0001] У цій заявці заявляється пріоритет попередньої заявки США № 61/579559, що подана 22 грудня 2011. Повне розкриття цієї попередньої заявки включено в цей документ шляхом посилання.

ГАЛУЗЬ ВИНАХОДУ

5 [0002] Цей винахід належить до способів перетворення біомаси на корисні продукти. Зокрема, винахід належить до одержання продуктів, таких як бутанол із цукрів, таких як фруктоза.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

10 [0003] Оскільки попит на нафту збільшується, зростає інтерес до поновлюваної сировини для виробництва біопалива й біохімічних сполук. Використання лігноцелюлозної біомаси як сировини для подібних виробничих процесів вивчають із 1970 років. Лігноцелюлозна біомаса є привабливою завдяки її широкому поширенню, відновлюваності, можливості одержати її на місці, а також тим, що вона не конкурує з використаннями в харчовій промисловості.

15 [0004] На сьогодні доступні багато видів потенційної лігноцелюлозної сировини, які містять сільськогосподарські відходи, деревну біомасу, побутові відходи, насіння олійних культур/макуху й морські водорості, наприклад, деякі з них. У цей час ці матеріали або використовують як корм для тварин, біокомпостні матеріали, спалюють у когенераційному пристрої або вивозять на смітник.

20 [0005] Лігноцелюлозна біомаса є стійкою до розкладання, тому що стінки рослинної клітини мають структуру, що є стійкою й щільною. Структура містить волокна кристалічної целюлози, вбудовані в геміцелюлозну матрицю, оточені лігніном. Ця щільна матриця є важкодоступною для ферментів й інших хімічних, біохімічних сполук і біологічних процесів. Матеріали целюлозної біомаси (напр., матеріал біомаси, з якого видалили практично весь лігнін) можуть бути більше доступними ферментам й іншим процесам перетворення, але при цьому, природні
25 целюлозні матеріали часто мають низькі виходи (у порівнянні з теоретичними виходами), якщо вступають у контакт із гідролізуючими ферментами. Лігноцелюлозна біомаса є ще більш стійкою до розкладання при впливі ферменту. Крім того, кожен тип лігноцелюлозної біомаси має свою власну специфічну композицію целюлози, геміцелюлози й лігніну.

30 [0006] У той час як ряд способів намагається витягти структурні вуглеводи з лігноцелюлозної біомаси, вони є або дуже дорогими, одержують дуже низький рівень виходу, залишають у кінцевому продукті небажані хімічні сполуки, або просто розкладають цукри.

35 [0007] Моносахариди з поновлюваних джерел біомаси можуть стати основою для хімічної й паливної промисловостей, за рахунок заміщення, доповнення або заміни нафти й іншої викопної сировини. Проте, необхідно розробити способи, які зроблять ці моносахариди доступними в більших кількостях при прийнятній чистоті й цінах.

КОРОТКИЙ ВИКЛАД

[0008] У цьому документі описані способи збільшення ефективності оцукрювання біомаси. Зокрема, ефективність може бути досягнута за допомогою усунення негативного зворотного зв'язку інгібування ферментативних реакцій.

40 [0009] В одному з аспектів, дійсний винахід описує спосіб одержання продукту, спосіб, що включає: одержання фруктози за допомогою оцукрювання біомаси, вступ у взаємодію оцукреної біомаси із засобом ізомеризації й перетворення фруктози з мікроорганізмом й/або ферментом на продукт.

45 [00010] У деяких варіантах реалізації, біомаса містить целюлозний або лігноцелюлозний матеріал. Целюлозну або лігноцелюлозну біомасу обробляють з можливістю зниження її стійкості до оцукрювання, наприклад, з використанням способу обробки, що вибраний із групи, яка складається з: бомбардування електронами, обробки ультразвуком, окислювання, піролізу, парового вибуху, хімічної обробки, механічної обробки, заморожування подрібнення і їх комбінацій.

50 [00011] Засіб ізомеризації може бути, наприклад, ізомеразою, напр., ксилоза ізомеразою.

55 [00012] У деяких варіантах реалізації, целюлозна або лігноцелюлозна біомаса обрана із групи, в яку входять: папір, продукти з паперу, паперові відходи, паперова маса, пігментований папір, крейдований папір, папір з покриттям, папір з наповнювачем, папір ілюстрованих видань, видавнича продукція, папір для друкуючих пристроїв, папір з полімерним покриттям, стопка карток, щільний папір, картон, бавовна, дерево, деревостружкова плита, відходи лісового господарства, тирса, деревина осики, тріска, трава, просо, міскантус, спартина, двохкістяник тросниковий, залишки зерна, рисова лушпайка, лушпайка вівса, солома, лушпайка ячменя, сільськогосподарські відходи, силос, солома канولا, пшенична солома, ячмінна солома, солома вівса, рисова солома, джут, прядиво, льон, бамбук, сизаль, абака, качани кукурудзи, кукурудзяна солома, солома сої, кукурудзяні волокна, люцерна, сіно, кокосові волокна, залишки

переробки цукру, багасса, бурячний гніт, макуха агави, водорості, морські водорості, гній, комунально-побутові стічні води, крохмальвмісна рослина, гречка, банани, ячмінь, маніока, кудзу, ока, саго, сорго, звичайна домашня картопля, солодка картопля, таро, батат, бобові, боби, сочевиця, горох, промислові відходи, і суміші будь-яких з них.

5 [00013] У деяких випадках, мікроорганізм містить штам *Clostridium* spp. Наприклад, мікроорганізм може являти собою *C. saccharoperbutylacetonicum*, напр., штам ATCC 27021 *C. saccharoperbutylacetonicum* або штам ATCC 27022 *C. saccharoperbutylacetonicum*.

[00014] Продукт може містити розчинник, напр., спирт, такий як ізобутанол або н-бутанол.

10 [00015] У деяких варіантах здійснення цього винаходу, описаних у цьому документі, який тоді як звичайно є кращим одержання продуктів, таких як бутанол, із цукрів, таких як фруктоза, отримана із целюлозного або лігноцелюлозного матеріалу, то в цьому випадку можуть використати фруктозу, отриману з інших джерел.

15 [00016] Варто розуміти, що дійсний винахід не обмежується варіантами здійснення цього винаходу, які розкривають у дійсному короткому викладенні, призначеному для охоплення модифікацій, які знаходяться у межах суті й обсягу винаходу, як визначено формулою винаходу.

КОРОТКИЙ ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

20 [00017] Вищевикладене буде очевидним з наступного, більше конкретного опису зразкових варіантів здійснення цього винаходу, як проілюстровано на прикладених графічних матеріалах, на яких однакові умовні позначення означають ту саму деталь на всіх різних видах. Графічні матеріали не обов'язково виконані в масштабі, замість цього акцент зроблений на ілюструванні варіантів здійснення цього винаходу.

25 [00018] Фіг. 1 являє собою схему, що ілюструє ферментативний гідроліз целюлози в глюкозу. Целюлозний субстрат (A) за допомогою ендоцелюлази (i) перетворюють у целюлозу (B), яку за допомогою екзоцелюлази (ii) перетворюють у целобіозу (C), яку за допомогою целобіази (бета-глюкозидази) перетворюють у глюкозу (D) (iii).

30 [00019] Фіг. 2 являє собою блок-схему, яка ілюструє перетворення сировини біомаси в один або більше продукт. Сировину попередньо обробляють фізичними методами (напр., для того, щоб знизити її розмір) (200), необов'язково обробляють, для того, щоб знизити її стійкість (210), оцукрюють для того, щоб утворився розчин цукру (220), розчин переносять (230) на промислове підприємство (напр., за допомогою трубопроводу, вагона) (або, якщо оцукрювання здійснюють у процесі транспортування, переносять сировину, фермент і воду), оцукровану сировину біопереробляють для того, щоб одержати бажаний продукт (напр., спирт) (240), і продукт далі можуть переробляти, напр., за допомогою дистиляції, для того, щоб одержати кінцевий продукт (250). Обробку для подолання стійкості можуть модифікувати за допомогою вимірювання вмісту лігніну (201) і установки або регулювання параметрів процесу (205). Оцукрену сировину (220) можуть модифікувати за допомогою змішування сировини із середовищем і ферментом (221).

35 [00020] Фіг. 3 являє собою блок-схему, яка ілюструє початкову фазу метаболізму глюкози й фруктози.

40 [00021] Фіг. 4 являє собою блок-схему, яка ілюструє метаболічний шлях у випадку утворення тригліцеридів протягом метаболізму фруктози.

[00022] Фіг. 5 являє собою блок-схему, що ілюструє ферментативний шлях у випадку бутанол-утворюючого організму.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

45 [00023] Дійсний винахід належить до способів переробки матеріалів біомаси (напр., матеріали біомаси або отримані з біомаси матеріали) для того, щоб одержати цукри, такі як фруктоза, які потім можуть бути використані для того, щоб одержати продукт. Наприклад, цукри, напр. фруктоза, можуть бути ферментовані для того, щоб одержати розчинник, такий як спирт, наприклад, бутанол, напр., ізобутанол або н-бутанол. Також може бути отримана масляна кислота. Винахідники виявили, що в деяких випадках розчин фруктози може бути ферментований у спирт швидше, й з кращими виходами, ніж у випадку розчину глюкози.

50 [00024] Без зв'язку з якою-небудь конкретною теорією, вважається, що продукти, такі як розчинники (напр., бутанол), є токсичними для розчинник-утворюючих організмів, а в ході метаболізму деяких цукрів, таких як фруктоза, виробляються захисні субстрати (напр., тригліцериди), більшою мірою або швидше, ніж при метаболізмі глюкози. Передбачуваний ефект розчинників полягає в тому, що вони взаємодіють із клітинними мембранами, руйнуючи плинність мембран. Розчинники, такі як бутанол, також належать до таких, що мають хаотропний вплив на мембрану. Хаотропні засоби перешкоджають стабілізації внутрішньомолекулярних взаємодій за допомогою нековалентних сил. Відповідно до цих ефектів, розчинники можуть інгібувати транспорт засвоюваної живильної речовини, активність мембранозв'язуючих ферментів і поглинання глюкози. Розчинники також можуть частково або

повністю знижувати мембранний градієнт рН, знижувати внутрішньоклітинні концентрації рН й АТР. У відповідь на збільшення розчинників, клітини можуть намагатися регулювати ліпідний склад, для того, щоб підтримувати плинність (Christopher A. Tomas, J. Bacteriol. 186:2006-2018 (2004)). Метаболізм фруктози може сприяти збільшенню ліпідів, таких як тригліцериди.

[00025] Без зв'язку з якою-небудь конкретною теорією, передбачається, що перевага цукрів, таких як фруктоза, у випадку одержання розчинника, може бути пов'язана з регулюванням гліколізу. Метою регулювання є контроль за ростом і здоров'ям організму. Вважається, що оскільки деякі цукри, такі як фруктоза, не так природно поширені у світі, як глюкоза, то механізм регулювання придушення його гліколізу не так добре розвинений. Це може привести до більше високого споживання й метаболізму в організмі таких цукрів, як фруктоза.

[00026] Як проілюстровано на Фіг. 1, наприклад, целюлозний субстрат (А) протягом оцукрювання спочатку гідролізують за допомогою ендоглюканаз (і) у випадкових положеннях, одержуючи олігомерні проміжні сполуки (напр., целюлозу) (В). Зазначені проміжні сполуки являють собою субстрати для що екзо-розщеплюють глюканаз (іі), таких як целобіогідролаза, для одержання целобіози з кінцевих груп целюлозного полімеру. Целобіоза являє собою водорозчинний 1,4-зв'язаний димер глюкози. В остаточному підсумку, целобіаза (ііі) розщеплює целобіозу (С) з утворенням глюкози (D). Таким чином, ендоглюканаз особливо ефективні при впливі на кристалічні частини целюлози й при збільшенні ефективності екзоцелюлаз при одержанні целобіози, яка для одержання глюкози потім має потребує специфічності целобіози. Таким чином, очевидно, що залежно від природи й структури целюлозного субстрату, кількість і тип трьох різних ферментів, можливо, повинні бути змінені.

[00027] Процес виробництва спирту, напр., бутанола, проілюстрований на Фіг. 2. Процес виробництва спирту може необов'язково містити, наприклад, механічну обробку сировини, напр., для того, щоб знизити його розмір (200), перед й/або після цієї обробки, необов'язково обробку сировини за допомогою іншої обробки фізичними методами для подальшого зниження її стійкості (210), а потім оцукрювання сировини, з використанням комплексу ферментів, для того, щоб утворився розчин цукру (220). Необов'язково, спосіб може також включати транспортування, напр., за допомогою трубопроводу, вагона, вантажівки або баржі, розчину (або сировини, ферменту й води, якщо оцукрювання здійснюють у процесі транспортування) на промислове підприємство (230). У деяких випадках оцукрену сировину надалі піддають біопереробці (напр., ферментують), для того, щоб одержати бажаний продукт напр., спирт (240). Цей кінцевий продукт у деяких варіантах реалізації може бути надалі перероблений, напр., за допомогою дистиляції (250), для того, щоб одержати кінцевий продукт. Одним зі способів зниження стійкості сировини є спосіб опромінення сировини електронами. При необхідності, етапи вимірювання вмісту лігніну в сировині (201) і установка або регулювання, параметрів процесу, засновані на цьому вимірюванні (205), можуть здійснюватися на різних етапах процесу, як описано Medoff й Masterman у публікації заявки на патент США 2010/0203495 A1, яка опублікована 12 серпня 2010, повне розкриття якої включено в цей документ шляхом посилання. Оцукрена сировина (220) також може бути модифікована за допомогою змішування сировини із середовищем і ферментом (221).

[00028] Етапи способу, описані вище з посиланням на Фіг. 2, будуть описані більш докладно, з наступним обговоренням матеріалів, що використовуються у процесі.

ФЕРМЕНТАЦІЯ ФРУКТОЗИ В КОРИСНІ ПРОДУКТИ

[00029] Розчин фруктози, що одержують за допомогою оцукрювання, або оцукрювання з наступною ізомеризацією, може бути ферментований для одержання спирту, напр., бутанола, або масляної кислоти.

[00030] Фіг. 3 ілюструє початкову фазу гліколізу й у випадку фруктози, і у випадку глюкози. Ферментація містить багатостадійну реакцію гліколізу, на початковій фазі якої одержують гліцеральдегід-3-фосфат. Як проілюстровано на Фіг. 3 і докладно обговорюється нижче, одержання гліцеральдегід-3-фосфата із фруктози містить меншу кількість реакцій, ніж одержання із глюкози, що може підвищувати ефективність, що спостерігається у випадку ферментації фруктози, у порівнянні з ферментацією глюкози.

[00031] Стосовно шляху глюкози на Фіг. 3, глюкозу перетворюють у глюкозу-6-фосфат за допомогою впливу гексокінази з АТР. Глюкозу-6-фосфат потім ізомеризують у фруктозу-6-фосфат за допомогою фосфогексоізомеразі й надалі перетворюють у фруктозу-1,6-фосфат за допомогою впливу фосфофруктокінази й АТР. У цьому випадку, дифосфатований цукор за допомогою фруктозодифосфаталядолази розщеплюється на дигідроксіацетонфосфат і гліцеральдегід-3-фосфат. Дигідроксіацетонфосфат ізомеризують у гліцеральдегід-3-фосфат за допомогою впливу триозофосфатізомеразі.

[00032] Знову звертаючись до Фіг. 3, існує кілька шляхів для гліколізу фруктози. У той час як гексокіназа бурхливо реагує із глюкозою, її спорідненість до фруктози є низькою. Таким чином, хоч фруктоза й може бути фосфорильована в глюкозу-6-фосфат за допомогою гексокінази й АТР, очікується, що внесок гліколізу цим шляхом є досить низьким. Швидше за все, шлях починається з фосфорилування фруктози за допомогою впливу фруктокінази й АТР, що дає фруктозу-1-фосфат. Фруктоза-1-фосфат потім розщеплюється на дигідроксіацетонфосфат й D-гліцеральдегід за допомогою фруктоза-1-фосфатальдолази. Як й у шляху глюкози, дигідроксіацетонфосфат ізомеризують у гліцеральдегід-3-фосфат за допомогою триозофосфатізомераз. D-гліцеральдегід перетворюють у гліцеральдегід-3-фосфат за допомогою триоскінази й АТР.

[00033] Мікроорганізм, що використовують у ферментації, переважно вибирають для одержання бутанола, напр., ізобутанола або н-бутанола. Придатні мікроорганізми містять ті, які обговорюються в розділі Матеріали нижче. Багато бутанол-утворюючі організми є облигатними анаеробами.

[00034] Фруктоза може направляти одержання тригліцеридів як субпродукта гліколізу, як проілюстровано на Фіг. 4. Кінцевий етап утворення тригліцеридів, проілюстрований на Фіг. 4, містить етерифікацію між гліцерол-3-фосфатом і жирними кислотами. Жирні кислоти утворені із гліцеральдегід-3-фосфата, утворення якого описане вище, з декількома наведеними тут проміжними сполуками. Утворення гліцерол-3-фосфата проілюстровано на Фіг. 4 і може відбуватися під впливом гліцерол-3-фосфатдегідрогенази на дигідроксіацетонфосфат. Це також може відбуватися під впливом гліцеролдегідрогенази на D-гліцеральдегід, з утворенням гліцерину, який потім фосфорилують за допомогою гліцерокінази й АТР у гліцерол-3-фосфат. Хоч утворення гліцерол-3-фосфат із глюкози можливо через дигідроксіацетонфосфатну проміжну сполуку по додатковому шляху через D-гліцеринальдегід, можливий тільки через фруктозу, може вироблятися більше цієї проміжної сполуки. Тригліцериди, отримані за допомогою етерифікації гліцерол-3-фосфата, можуть сприяти одержанню бутанола за допомогою захисту організму від токсичних ефектів бутанола.

[00035] Фіг. 5 ілюструє ферментативний шлях бутанол-утворюючого організму (*Clostridium acetobutylicum*). При звичайній ферментації, після індукційного періоду клітини входять у фазу експонентного росту. У фазі росту спочатку одержують бутират й ацетат разом з АТР, що є необхідним для росту клітин. Цю фазу також називають фазою кислотоутворення. Аналогічно, і в стаціонарній фазі культура зазнає метаболічного зрушення в бік утворення ацетону, бутанола й етанолу як основних продуктів розчинників. Цей етап також відомий як сольвентогенна фаза. Протягом і після сольвентогенної фази клітини стають вегетативними, гинуть й/або утворюють спори. На Фіг. 5 реакції представлені за допомогою жирних ліній і позначені за допомогою символів від R1 до R19. Реакції кислотоутворення являють собою R9 й R18 (каталізовані за допомогою РТА-АК й РТВ-БК, відповідно), утворюють ацетат і бутират, відповідно. Дві кислоти знову поглинаються через R7 й R17 (зворотні шляхи R9 й R18), або безпосередньо перетворюються в ацетил-КоА й бутирил-КоА через R8 й R15 (каталізовані за допомогою КоАТ). У сольвентогенних реакціях R11, R16 й R19 (каталізовані за допомогою ААД, ААДС й ВДН, відповідно), утворюються етанол, ацетат і бутанол, відповідно. R14 являє собою сумарну реакцію, що містить реакції, каталізовані за допомогою ВНБД, СРО й ВСД (<http://www.biomedcentral.com/1752-0509/5/S1/S12> "An improved kinetic model for the acetone-butanol-ethanol pathways of *Clostridium acetobutylicum* and model-based perturbation analysis").

[00036] Оптимальне значення рН при ферментації становить від близько 4 до 7 рН. Звичайний час ферментації становить близько від 24 до 168 годин з температурами, що знаходяться в діапазоні від 20 °С до 40 °С, проте, термофільні мікроорганізми віддають перевагу більш високі температури. У випадку анаеробних організмів кращим є проведення ферментації при відсутності кисню, напр., в атмосфері інертного газу, такого як N₂, Ar, He, CO₂ або їх сумішей. Додатково, суміш може мати постійну продувку інертного газу, що проходить через резервуар, протягом окремої частини або всієї ферментації.

[00037] Протягом ферментації можуть використати струминне перемішування або інше перемішування, а в деяких випадках оцукрювання й ферментацію здійснюють в одній ємності. У деяких варіантах здійснення цього винаходу ферментацію проводять без будь-якого механічного змішування.

[00038] Живильні речовини додають протягом оцукрювання й/або ферментації, наприклад, комплекси живильних речовин на основі продуктів харчування, описані в USSN 61/365493 і патенті США 6358717, повне розкриття яких включено в цей документ шляхом посилання.

[00039] Мобільні ферментатори можуть бути використані, як це описано в заявці на патент США №12/374549 і міжнародній заявці № WO 2008/011598. Аналогічно, устаткування для

оцукрювання може бути мобільним. Крім того, оцукрювання й/або ферментація можуть бути частково або повністю виконані під час транспортування.

КРАЩІ ЗАСОБИ ДЛЯ ФЕРМЕНТАЦІЇ

5 [00040] Мікроорганізм(и), що використовується при ферментації, може являти собою природний мікроорганізм й/або створені мікроорганізми. Наприклад, мікроорганізм може являти собою бактерію, напр., бактерію, що розкладає клітковину, гриб, напр., дріжджі, рослину або протист, напр., водорість, найпростіше або грибоподібний протист, напр., міксоміцет. Коли організми сумісні, можна використати їх суміші.

10 [00041] Придатні ферментуючі мікроорганізми проявляють здатність до перетворення вуглеводів, таких як глюкоза, ксилоза, арабіноза, манноза, галактоза, олігосахариди або полісахариди, у спирт, напр., бутанол або похідне бутанола.

[00042] Ілюстративні мікроорганізми містять, але без обмеження ними, наступні штами *Clostridium*:

Таблиця 1

Ілюстративні штами *Clostridium*

<i>C. saccharoperbutylacetonicum</i>	ATCC 27021
<i>C. saccharoperbutylacetonicum</i>	ATCC 27022
<i>C. saccharobutylicum</i>	ATCCBAA-117
<i>C. puniceum</i>	ATCC 43978
<i>C. beijerinckii</i>	ATCC 6014
<i>C. acetobutylicum</i>	NRRLB-527
<i>C. acetobutylicum</i>	NRRL B-591
<i>C. beijerinckii</i>	NRRL B593
<i>C. acetobutylicum</i>	NRRLB-596
<i>C. beijerinckii</i>	ATCC 11914
<i>C. acetobutylicum</i>	DSM 1732
<i>C. beijerinckii</i>	NRRL B-592
<i>C. acetobutylicum</i>	ATCC 3625
<i>C. saccharobutylicum</i>	NRRL B-643
<i>C. acetobutylicum</i>	NRRL B595
<i>C. roseum</i>	NRRL 17797
<i>C. acetobutylicum</i>	ATCC 4259
<i>C. aurantibutyricum</i>	DSM 793
<i>C. beijerinckii</i>	ATCC 309058
<i>C. felsineum</i>	ATCC 17788
<i>C. saccharobutylicum</i>	NRRL B-643

КСИЛОЗА ІЗОМЕРАЗА

15 [00044] Ксилоза ізомераза (ES 5.3. 1.5) являє собою фермент, що каталізує пряму й зворотну хімічну реакцію між D-ксилозою й D-ксилозулозою. Вона також систематично відома як глюкоїзомераза й альдо-кето-ізомераза D-ксилози, і належить до сімейства ізомераз, особливо тих внутрішньомолекулярних оксидоредуктаз, які взаємоперетворюють альдози й кетози. Інші назви, які звичайно використовують, містять D-ксилоза ізомераза, D-ксилоза кетоізомераза, і D-ксилоза кетол-ізомераза. Фермент бере участь у взаємоперетвореннях пентози й глюкуроната, і метаболізмі фруктози й манози. Його використовують у промисловості для перетворення глюкози у фруктозу у виробництві кукурудзяного сиропу з високим змістом фруктози. Іноді називають "глюкоза ізомераза." "Ксилоза ізомераза" й "глюкоза ізомераза" у цьому документі використовуються взаємозамінно. In vitro, глюкоза ізомераза каталізує взаємоперетворення глюкози й фруктози. In vivo, вона каталізує взаємоперетворення ксилози й ксилозулози.

30 [00045] Деякі типи ферментів вважають ксилоза ізомеразами. Перший вид одержують із *Pseudomonas hydrophila*. Цей фермент має спорідненість із глюкозою в 160 разів менше, ніж із ксилозою, але, тим не менш, є корисним для збільшення кількості фруктози в присутності глюкози. Другий вид ферменту виявили в *Escherichia intermedia*. Цей фермент являє собою фосфоглюкоза ізомеразу (EC 5.3. 1.9) і може ізомеризувати дефосфорильований цукор тільки в присутності арсенату. Глюкоза ізомераза (EC 5.3.16) може бути виділена з *Bacillus megaterium*

Al і є NAD-зв'язаним і специфічним до глюкози. Інша глюкоза ізомераза, що має схожу активність, виділена з *Paracolobacterium aerogenoides*. Глюкоза ізомерази, які одержують за допомогою гетероферментативних молочнокислих бактерій, вимагають як індуктор ксилону й відносно нестабільні при високій температурі. Ксилоніза ізомераза (EC 5.3.1.5) є найбільш корисною для комерційного застосування, оскільки не вимагає дорогих кофакторів, таких як NAD⁺ або АТФ, і відносно термостійка.

[00046] Глюкоза ізомерази звичайно одержують міжклітинно, але відомі повідомлення про позаклітинну секрецію глюкози ізомерази. Використовуваний фермент може бути виділений з багатьох бактерій, які містять, але без обмеження ними: *Actinomyces olivocinereus*, *Actinomyces phaeochromogenes*, *Actinoplanes missouriensis*, *Aerobacter aerogenes*, *Aerobacter cloacae*, *Aerobacter levanicus*, *Arthrobacter* spp., *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus megabacterium*, *Bacillus coagulans*, *Bifidobacterium* spp., *Brevibacterium incertum*, *Brevibacterium pentosaminokislotaicum*, *Chainia* spp., *Corynebacterium* spp., *Cortobacterium helvolum*, *Escherichia freundii*, *Escherichia intermedia*, *Escherichia coli*, *Flavobacterium arborescens*, *Flavobacterium devorans*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermenti*, *Lactobacillus manniotopoeus*, *Lactobacillus gayonii*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus lycopersici*, *Lactobacillus pentosus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Microbispora rosea*, *Microellobospora flava*, *Micromonospora coerulea*, *Mycobacterium* spp., *Nocardia asteroides*, *Nocardia corallia*, *Nocardia dassonvillei*, *Paracolobacterium aerogenoides*, *Pseudonocardia* spp., *Pseudomonas hydrophila*, *Sarcina* spp., *Staphylococcus bibula*, *Staphylococcus flavovirens*, *Staphylococcus echinatus*, *Streptococcus achromogenes*, *Streptococcus phaeochromogenes*, *Streptococcus fracliae*, *Streptococcus roseochromogenes*, *Streptococcus olivaceus*, *Streptococcus californicus*, *Streptococcus venuseus*, *Streptococcus virginia*, *Streptomyces olivochromogenes*, *Streptococcus venezuelae*, *Streptococcus wedmorensis*, *Streptococcus griseolus*, *Streptococcus glaucescens*, *Streptococcus bikimensis*, *Streptococcus rubiginosus*, *Streptococcus achinatus*, *Streptococcus cinnamomensis*, *Streptococcus fradiae*, *Streptococcus albus*, *Streptococcus griseus*, *Streptococcus hivers*, *Streptococcus matensis*, *Streptococcus murinus*, *Streptococcus nivens*, *Streptococcus platensis*, *Streptosporangium album*, *Streptosporangium oulgare*, *Thermopolyspora* spp., *Thermus* spp., *Xanthomonas* spp. і *Zymomonas mobilis*.

[00047] Глюкоза ізомераза для перетворення глюкози у фруктозу може бути використана вільною в розчині або іммобілізованою на носії. Цілі клітини або ферменти вільні в клітині можуть бути іммобілізовані. Структурою носія може бути будь-який нерозчинний матеріал. Структурами носія можуть бути катіонні, аніонні або нейтральні матеріали, наприклад, діетиламіноектилцелюлоза, оксиди металів, хлориди металів, карбонати металів і полістироли. Іммобілізація може бути здійснена за допомогою будь-яких придатних засобів. Наприклад, іммобілізація може бути здійснена за допомогою вступу у взаємодію носія й цілої клітини або ферменту в розчиннику, такому як вода, а потім розчинник видаляють. Розчинник може бути вилучений за допомогою будь-яких придатних засобів, наприклад, фільтруванням, випарюванням або сушінням розпиленням. Як інший приклад, може бути ефективним сушіння розпиленням цілих клітин або ферменту з носієм.

[00048] Глюкоза ізомераза також може бути присутньою у живій клітині, що продукує фермент протягом процесу. Наприклад, глюкоза ізомераза, яку одержують із бактерії, у процесі може бути співкультивована з бактерією, що ферментує етанол. З іншого боку, бактерія, з якої одержують глюкоза ізомеразу, може, по-перше, вступати в контакт із субстратом, а потім, шляхом інокулювання із субстратом, продукувати етанол.

[00049] Глюкоза ізомераза, що може бути присутньою в, або секретуватися з клітини, також корисна для подальшого перетворення цукрів. Наприклад, види, що ферментують глюкозу, можуть бути генетично модифіковані, для того, щоб вони містили й експресували ген одержання глюкози ізомераза.

ВИДІЛЕННЯ РОЗЧИННИКІВ

[00050] Після ферментації, кінцеві рідини можуть бути очищені з використанням будь-якого корисного способу. Наприклад, деякі корисні способи являють собою дистиляцію, адсорбцію, рідин-рідинну екстракцію, дифузійну екстракцію, зворотний осмос, дифузійне випарювання і газопоглинання (дивися, напр., J. Ind. Microbiol. Biotechnol. (2009) 36:1127-1138).

МАТЕРІАЛИ БІОМАСИ

[00051] Термін "матеріали біомаси", що використовується в цьому документі, містить лігноцелюлозні, целюлозні, крохмальні й мікробні матеріали.

[00052] Лігноцелюлозні матеріали містять, але без обмеження ними, дерево, деревостружкову плиту, відходи лісового господарства (напр., тирса, дерево осики, тріска), траву, (напр., просо, міскантус, спартина, двохкісточник тростниковий), залишки зерна, (напр.,

рисова лушпайка, лушпайка вівса, солома, лушпайка ячменя), сільськогосподарські відходи (напр., силос, солома каніола, пшенична солома, ячмінна солома, солома вівса, рисова солома, джут, прядиво, льон, бамбук, сизаль, абака, качани кукурудзи, кукурудзяна солома, солома сої, кукурудзяні волокна, люцерна, сіно, кокосові волокна), залишки переробки цукру (напр., багаса, бурячний гніт, макуха агави), водорості, морські водорості, гній, комунально-побутові стічні води й суміші будь-яких з них.

[00053] У деяких випадках лігноцелюлозний матеріал містить кукурудзяні качани. Зібрані або перемелені кукурудзяні качани можуть розподілятися в шарі щодо рівномірної товщини для опромінення, а після опромінення легко розподіляються в середовищі для подальшої переробки. Для полегшення збирання й збору, у деяких випадках використовують рослину кукурудзи повністю, включаючи стебло кукурудзи, зерна кукурудзи, а в деяких випадках навіть кореневу систему рослини.

[00054] Переважно, протягом ферментації кукурудзяних качанів або целюлозних або лігноцелюлозних матеріалів, які містять значні кількості кукурудзяних качанів, не потрібні додаткові живильні речовини (крім джерела азоту, напр., сечовини або аміаку).

[00055] Кукурудзяні качани, до й після подрібнення, також легше передати й розподілити, і вони мають меншу схильність до утворення вибухонебезпечних сумішей у повітрі, ніж інші целюлозні або лігноцелюлозні матеріали, такі як сіно й трава.

[00056] Целюлозні матеріали містять, наприклад, папір, продукти з паперу, паперові відходи, паперову масу, пігментований папір, крейдований папір, папір з покриттям, папір з наповнювачем, папір ілюстрованих видань, видавничу продукцію (напр., книги, каталоги, довідники, наклейки, календарі, вітальні листівки, брошури, рекламні матеріали, газетний папір), папір для друкувальних пристроїв, папір з полімерним покриттям, стопку карток, щільний папір, картон, матеріали, які мають високий зміст α -целюлози, такі як бавовна, і суміші будь-яких з них. Наприклад, продукти з паперу як описано в заявці на патент США 13/396365 ("Magazine Feedstocks", Medoff et al., подана 14 лютого 2012), повне розкриття якої включено в цей документ шляхом посилання.

[00057] Целюлозні матеріали також можуть містити лігноцелюлозні матеріали, які були повторно перетворені в деревину.

[00058] Крохмальні матеріали містять сам крохмаль, напр., кукурудзяний крохмаль, пшеничний крохмаль, картопляний крохмаль або рисовий крохмаль, похідне крохмалю, або матеріал, що містить крохмаль, такий як їстівні продукти харчування або сільськогосподарська культура. Наприклад, крохмальний матеріал може бути крохмальвмісною рослиною, гречкою, бананами, ячменем, маніокою, кудзу, окою, саго, сорго, звичайними домашніми картоплями, солодкою картоплею, таро, бататом, або одним або більше бобовим, таким як боби, сочевиця або горох. Суміші будь-яких двох або декількох крохмальних матеріалів також являють собою крохмальні матеріали. Також використовують суміші крохмальних, целюлозних й/або лігноцелюлозних матеріалів. Наприклад, біомаса може бути повністю рослиною, частиною рослини або різних частин рослини, напр., рослини пшениці, рослини бавовни, рослини кукурудзи, рослини рису або деревом. Крохмальні матеріали можуть обробляти за допомогою будь-яких способів, описаних у цьому документі.

[00059] Мікробні матеріали містять, але без обмеження ними, будь-який мікроорганізм, що зустрічається в природі або генетично модифікований, який містить або здатний забезпечити джерело вуглеводів (напр., целюлози), наприклад, найпростіші, напр., найпростіші тварини (напр., протозоа, такі як жгутикові, амебовидні, інфузорії й споровики) і найпростіші рослини (напр., водорості, такі як альвеолати, хлорархніофіти, кріptomonади, еугленоїдеї, глаукофіти, гаптофіти, червоні водорості, страменофіти й зелені рослини). Інші приклади містять морські водорості, планктони (напр., макропланктони, мезопланктон, мікропланктони, нанопланктон, піопланктон, і фемтопланктон), фітопланктон, бактерію (напр., грам-позитивна бактерія, грам-негативна бактерія й екстремофіли), дріжджі й/або їх суміші. У деяких випадках, мікробні біомаси одержують із природних джерел, напр., океана, озера, водойми, напр., із солоною водою або прісною водою, або на суші. З іншого боку, або крім цього, мікробну біомасу одержують із культури клітин, напр., серійні сухі й вологі культура й ферментаційні системи.

[00060] Матеріал біомаси також може містити субпродукт і схожі джерела матеріалу.

[00061] В інших варіантах здійснення цього винаходу матеріали біомаси, такі як целюлозні, крохмальні й лігноцелюлозні сировинні матеріали, можуть бути отримані із трансгенних мікроорганізмів і рослин, які модифіковані в порівнянні з видом дикого типу. Подібні модифікації можуть бути здійснені, наприклад, протягом повторюваних етапів селекції й бридінгу, для того, щоб одержати бажану ознаку в рослині. Крім того, рослини можуть мати генетичний матеріал, що вилучений, модифікований, подавлений й/або доданий у порівнянні з видом дикого типу.

Наприклад, генетично модифіковані рослини одержують за допомогою способів рекомбінантних DNA, у яких генетичні модифікації містять введення або модифікування специфічних генів з батьківських сортів, або, наприклад, за допомогою трансгенного брідінгу, у якому специфічний ген або гени вводять рослині з різних видів рослини й/або бактерії. Іншим способом створити генетичну мінливість є мутаційна селекція, у якій нові алелі штучно створюють із ендегенних генів. Штучні гени можуть створювати за допомогою різних способів, включаючи обробку рослини або насіння, наприклад, хімічними мутагенами (напр., з використанням алкілюючих засобів, епоксидів, алкалоїдів, пероксидів, формальдегіду), опроміненням (напр., рентгенівські промені, гамма-промені, нейтрони, бета-частинки, альфа-частинки, протони, дейтрони, УФ-випромінювання) і температурним впливом або іншим зовнішнім впливом з наступними способами селекції. Інші способи забезпечити модифіковані гени піддаються помилкам PCR і перестановці DNA, з наступним введенням бажаного модифікованого DNA у бажану рослину або насіння. Способи введення бажаної генетичної мінливості в насіння або рослини містять, наприклад, використання бактеріального носія, балістичної трансфекції, осадження фосфату кальцію, електропорації, сплайсингу гена, сайленсингу гена, ліпофекції, мікроін'єкції й вірусних носіїв. Додаткові генетично модифіковані матеріали минулого описані в заявці на патент США 13/396369, поданої 14 лютого 2012, повне розкриття якої включено в цей документ шляхом посилання.

[00062] Будь-який з описаних тут способів може бути здійснений за допомогою сумішей будь-яких матеріалів біомаси, описаних тут.

ПІДГОТОВКА МАТЕРІАЛУ БІОМАСИ - МЕХАНІЧНІ ОБРОБКИ

[00063] Біомаса може бути в сухому вигляді, наприклад, із вмістом води менш, ніж близько 35 % (напр., менш, ніж близько 20 %, менш, ніж близько 15 %, менш, ніж близько 10 %, менш, ніж близько 5 %, менш, ніж близько 4%, менш, ніж близько 3 %, менш, ніж близько 2 % або навіть менш, ніж близько 1 %). Біомаса також може бути доставлена у вологому стані, наприклад, у вигляді вологої твердої речовини, суспензії або суспензії із щонайменше близько 10 мас. % твердих речовин (напр., щонайменше близько 20 мас. %, щонайменше близько 30 мас. %, щонайменше близько 40 мас. %, щонайменше близько 50 мас. %, щонайменше близько 60 мас. %, щонайменше близько 70 мас. %).

[00064] Процеси, описані в цьому документі, можуть використати матеріали з низькою об'ємною щільністю, наприклад, целюлозну або лігноцелюлозну сировину, що попередньо обробляють фізичними методами, для того, щоб вона мала об'ємну щільність меншу, ніж близько 0,75 г/см³, напр., менш, ніж близько 0,7, 0,65, 0,60, 0,50, 0,35, 0,25, 0,20, 0,15, 0,10, 0,05 або менше, напр., менш, ніж близько 0,025 г/см³. Об'ємну щільність визначають із використанням ASTM D1895B. Коротше кажучи, спосіб включає наповнення мірного циліндра відомим об'ємом зразка й одержують масу зразка. Об'ємну щільність розраховують за допомогою розділення маси зразка в грамах на відомий об'єм циліндра в кубічних сантиметрах. При необхідності, матеріали з низькою об'ємною щільністю можуть бути ущільнені, наприклад, за допомогою способів, описаних Medoff у патенті США № 7971809, повне розкриття якого включено в цей документ шляхом посилання. [00065] У деяких випадках, попередня обробка містить екранування матеріалу біомаси. Екранування можуть здійснювати крізь сітку або перфоровану пластину з бажаним розміром отвору, наприклад, менш, ніж близько 6,35 мм (1/4 дюйм, 0,25 дюйм), (напр., менш, ніж близько 3,18 мм (1/8 дюйм, 0,125 дюйм), менш, ніж близько 1,59 мм (1/16 дюйм, 0,0625 дюйм), менш, ніж близько 0,79 мм (1/32 дюйм, 0,03125 дюйм), напр., менш, ніж близько 0,51 мм (1/50 дюйм, 0,02000 дюйм), менш, ніж близько 0,40 мм (1/64 дюйм, 0,015625 дюйм), менш, ніж близько 0,23 мм (0,009 дюйм), менш, ніж близько 0,20 мм (1/128 дюйм, 0,0078125 дюйм), менш, ніж близько 0,18 мм (0,007 дюйм), менш, ніж близько 0,13 мм (0,005 дюйм), або навіть менш, ніж близько 0,10 мм (1/256 дюйм, 0,00390625 дюйм)). В окремій конфігурації бажана біомаса проходить через отвори або сито, і, таким чином, якщо біомаса більше по розмірах, то отвори або сито не піддають опроміненню. Ці матеріали, більші по розмірах, можуть бути повторно перероблені, наприклад, за допомогою подрібнення, або вони можуть бути просто вилучені з переробки. При іншій конфігурації матеріал, що є по розмірах більше отвору, піддають опроміненню, а матеріал, що по розмірах менше, видаляють за допомогою процесу екранування або переробляють. У конфігурації такого роду сам конвеєр (наприклад, частина конвеєра) може бути перфорований або виконаний із ситом. Наприклад, в окремому варіанті здійснення цього винаходу матеріал біомаси може бути вологим й отвори або сітка дозволяє воді стікати з біомаси перед опроміненням.

[00066] Екранування матеріалу також може здійснюватися вручну, наприклад, за допомогою оператора або механоїду (напр., робот, оснащений кольоровим, відбивним або іншим датчиком) який видаляє небажаний матеріал. Екранування також може здійснюватися за допомогою

магнітного екранування, у якому магніт розташований біля матеріалу, що транспортується, а магнітний матеріал видаляють за допомогою магніту.

[00067] Необов'язкова попередня обробка може містити нагрівання матеріалу. Наприклад, частина конвеєра може бути спрямована через зону нагрівання. Зона нагрівання може бути створена, наприклад, за допомогою ІЧ-випромінювання, мікрохвильових печей, горіння (наприклад, газу, вугілля, нафти, біомаси), резистивного нагрівання й/або індуктивних котушок. Тепло може застосовуватися щонайменше до однієї сторони або більше, ніж до однієї сторони, може бути безперервним або періодичним, і може бути тільки на частині матеріалу або на всьому матеріалі. Наприклад, частина транспортуючого жолоба може бути нагріта з використанням нагрівального кожуха. Нагрівання може бути, наприклад, з метою висушування матеріалу. У випадку висушування матеріалу, це також може спрощено, з або без нагрівання, за допомогою руху газу (напр., повітря, кисень, азот, He, CO₂, аргон) над й/або через біомасу, при її транспортуванні.

[00068] Необов'язково, попередня обробка може містити охолодження матеріалу. Охолодження матеріалу описане Medoff у патенті США № 7900857, розкриття якого включено в цей документ шляхом посилання. Наприклад, охолодження може бути за допомогою застосування охолоджуючої рідини, наприклад, води (напр., із гліцерином), або азоту (напр., рідкий азот) у нижній частині конвеєрного жолоба. Крім того, охолоджуючий газ, наприклад, над матеріалом біомаси або під конвеєрною системою можуть продувати охолоджений азот.

[00069] Ще один спосіб необов'язкової попередньої обробки може містити додавання матеріалу до біомаси. Додатковий матеріал може бути доданий за допомогою, наприклад, зрошення, обприскування й/або розливу матеріалу в біомасі, при її транспортуванні. Матеріали, які можуть бути додані, містять, наприклад, метали, керамічні вироби й/або іони, як описано в публікації заявки на патент США 2010/0105119 A1 (подана 26 жовтня 2009) і публікації заявки на патент США 2010/0159569 A1 (подана 16 грудня 2009), повні розкриття яких включені в цей документ шляхом посилання. Необов'язкові матеріали, які можуть бути додані, містять кислоти й основи. Іншими матеріалами, які можуть бути додані, є окислювачі (напр., пероксиди, хлорати), полімери, мономери, що полімеризуються (напр., ті, які містять ненасичені зв'язки), вода, каталізатори, ферменти й/або організми. Матеріали додають, наприклад, у чистому вигляді, як розчин у розчиннику (напр., воді або органічному розчиннику) і/або як розчин. У деяких випадках розчинник є летким і може випаровуватися напр., за допомогою нагрівання й/або продувки газу, як описано раніше. Доданий матеріал може утворювати рівномірний шар на біомасі або являти собою гомогенну суміш різних компонентів (напр., біомаси й додаткового матеріалу). Доданий матеріал може модулювати наступний етап опромінення за допомогою збільшення ефективності опромінення, гасіння опромінення або зміни ефекту опромінення (напр., від електронних пучків у рентгенівських променів або тепла). Спосіб може не мати ніякого впливу на опромінення, але надалі бути корисним для наступної обробки. Доданий матеріал може допомогти в транспортуванні матеріалу, наприклад, за рахунок зниження рівня пилу.

[00070] Біомаса може бути доставлена на конвеєр за допомогою стрічкового конвеєра, пневматичного конвеєра, шнекового конвеєра, завантажувального ковша, труби, вручну або за допомогою їх комбінації. Біомаса може бути, наприклад, закинута, налита й/або розміщена в конвеєрі за допомогою кожного із цих способів. У деяких варіантах здійснення цього винаходу матеріал доставляють на конвеєр з використанням замкнутої системи розподілу матеріалу, щоб допомогти підтримувати атмосферу з низьким рівнем кисню й/або для контролю за пилом і фракціями дуже дрібних часток. Підняті в повітря, або висячі в повітрі, фракції дуже дрібних часток біомаси й пил є небажаними, тому що їх утворення є вибухонебезпечним або може пошкодити плівки для захисту від розлітання осколків при руйнуванні шибок електронної гармати (якщо такий пристрій використовують для обробки матеріалу).

[00071] Матеріал можна вирівняти для того, щоб утворилася рівномірна товщина між близько 0,0312 й 5 дюймами (напр., між близько 0,0625 й 2,000 дюймами, між близько 0,125 й 1 дюймом, між близько 0,125 й 0,5 дюйма, між близько 0,3 й 0,9 дюйми, між близько 0,2 й 0,5 дюйми, між близько 0,25 і 1,0 дюймом, між близько 0,25 й 0,5 дюйма, 0,100 +/- 0,025 дюйма, 0,150 +/- 0,025 дюйма, 0,200 +/- 0,025 дюйма, 0,250 +/- 0,025 дюйма, 0,300 +/- 0,025 дюйма, 0,350 +/- 0,025 дюйма, 0,400 +/- 0,025 дюйма, 0,450 +/- 0,025 дюйма, 0,500 +/- 0,025 дюйма, 0,550 +/- 0,025 дюйма, 0,600 +/- 0,025 дюйма, 0,700 +/- 0,025 дюйма, 0,750 +/- 0,025 дюйма, 0,800 +/- 0,025 дюйма, 0,850 +/- 0,025 дюйма, 0,900 +/- 0,025 дюйма, 0,900 +/- 0,025 дюйма).

[00072] Як правило, є переважною як можна більш швидка передача матеріалу крізь пучок електронів, щоб максимізувати пропускну здатність. Наприклад, матеріал транспортують при швидкості щонайменше 1 фут/хв., напр., щонайменше 2 фут/хв., щонайменше 3 фут/хв.,

щонайменше 4 фут/хв., щонайменше 5 фут/хв., щонайменше 10 фут/хв., щонайменше 15 фут/хв., 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 фут/мін. Швидкість транспортування пов'язана з струмом пучка, наприклад, при товщині біомаси $\frac{1}{4}$ дюйма й 100 мА, конвеєр може рухатися близько 20 фут/хв., щоб забезпечити корисну дозу опромінення, при 50 мА конвеєр може рухатися близько 10 фут/хв., щоб забезпечити приблизно таку ж дозу опромінення.

[00073] Після того, як матеріал біомаси транспортують через зону опромінення, може бути виконана необов'язкова додаткова переробка. Необов'язкова додаткова переробка може, наприклад, являти собою процес, описаний у випадку попереднього опромінення. Винятково, біомаса може бути екранована, нагріта, охолоджена й/або комбінована з добавками. Однозначно, у випадку наступного опромінення може відбуватися гасіння радикалів, наприклад, гасіння радикалів за допомогою додавання рідин або газів (напр., кисню, оксиду азоту, аміаку, рідин), з використанням тиску, тепла й/або додавання акцепторів радикалів. Наприклад, біомасу транспортують із прикладеного конвеєра й піддають впливу газу (напр., кисню), який робить гасіння з утворенням карбоксильованої групи. В окремому варіанті здійснення цього винаходу біомасу протягом опромінення піддають впливу реакційно-здатного газу або рідини. Гасіння біомаси, яку піддають опроміненню, описано Medoff у патенті США № 8083906, повне розкриття якого наведено в цьому документі шляхом посилання.

[00074] При необхідності, можуть бути використані одна або більше механічних обробок на додаток до опромінення, для подальшого зниження стійкості матеріалу біомаси. Ці процеси можуть бути застосовані перед, протягом й/або після опромінення.

[00075] У деяких випадках, механічна обробка може містити початкову підготовку отриманої сировини, напр., зменшення розмірів матеріалів, наприклад, за допомогою подрібнення, напр., розрізання, подрібнення, розсікання, перетворення в порошок або рубання. Наприклад, у деяких випадках, пухка сировина (напр., перероблений папір, крохмальні матеріали або просо) готують за допомогою розсікання або шинкування. Механічна обробка може знижувати об'ємну щільність матеріалу біомаси, збільшувати площу поверхні матеріалу біомаси й/або зменшити один або більше габаритів матеріалу біомаси.

[00076] З іншого боку, або крім цього, матеріал сировини можуть спочатку обробляти фізичними методами за допомогою одного або більше інших способів обробки фізичними методами, напр., хімічної обробки, радіації, обробки ультразвуком, окислювання, піролізу або парового вибуху, а потім обробляють механічно. Цей цикл обробки може бути вигідним, тому що матеріали, які обробляють за допомогою одного або більше способів обробки іншого типу, напр., опромінення або піролізу, як правило, більш тендітні й, отже, можуть бути більше підходящими для подальшої зміни структури матеріалу за допомогою механічної обробки. Наприклад, матеріал сировини може бути транспортований шляхом іонізуючого випромінювання з використанням конвеєра, як описано в цьому документі, а потім обробляють механічно. Хімічна обробка може видаляти лігнін частково або повністю (наприклад, хімічне подрібнення) і може частково або повністю гідролізувати матеріал. Також можуть бути використані способи з попередньою гідролізацією матеріалу. Також можуть бути використані способи з матеріалом, що не був попередньо гідролізований. Могуть бути використані способи із сумішами гідролізованих і негідролізованих матеріалів, наприклад, із близько 50% або більше негідролізованого матеріалу, із близько 60% або більше негідролізованого матеріалу, із близько, 70% або більше негідролізованого матеріалу, із близько 80% або більше негідролізованого матеріалу або навіть із 90% або більше негідролізованого матеріалу.

[00077] На додаток до зменшення розміру, яке може бути виконане на початку й/або наприкінці обробки, механічна обробка також може бути вигідною для "розкриття", "піддавання напрузі", руйнування або диспергування матеріалів біомаси, що робить целюлозу матеріалів більш сприйнятливою до розривів ланцюга й/або руйнуванню кристалічної структури під час фізичної обробки.

[00078] Способи механічної обробки матеріалу біомаси містять, наприклад, перемелювання або подрібнення. Перемелювання здійснюють із використанням, наприклад, молоткового млина, кульового млина, колоїдного млина, конічного або конусного млина, дискового млина, дробильних валків, млина Вілі або борошномельного млина або іншого млина. Подрібнення здійснюють із використанням, наприклад, розрізаючої дробарки/дробарки ударної дії. Деякі ілюстративні дробарки містять кам'яні дробарки, стрижневі дробарки, кавові дробарки або гратознімачі. Подрібнення або перемелювання можна забезпечити, наприклад, за допомогою зворотно-поступального руху стержня або іншого елемента, як у випадку зі стержневим млином. Інші способи механічної обробки включають механічний розрив або витягування, інші способи, у яких до волокон прикладають тиск, і розмелювання повітряним тертям. Придатні способи

механічної обробки додатково включають будь-які інші способи, які міняють молекулярну структуру вихідного матеріалу, що надійшов на попередніх етапах обробки.

[00079] Системи механічної обробки можна виконати таким чином, щоб одержувати потоки з певними морфологічними властивостями, такими як, наприклад, специфічні максимальні розміри, специфічне відношення довжини до ширини, або специфічні відношення площ поверхні. Фізична підготовка дозволяє збільшити швидкість реакцій, поліпшити рух матеріалу на конвеєрі, поліпшити профіль опромінення матеріалу, поліпшити рівномірність опромінення матеріалу або зменшити необхідний час переробки за рахунок розкриття матеріалів і роблячи їх більше доступними для процесів й/або реагентів, таких як реагенти в розчині.

[00080] Можна контролювати об'ємну щільність вихідної сировини (наприклад, в бік збільшення). У деяких випадках, може бути бажаним одержання матеріалу з низькою об'ємною щільністю, загущення матеріалу (наприклад, щоб зробити його транспортування в інше місце більше зручним й менш дорогим) і потім повернення матеріалу в стан з більш низькою об'ємною щільністю (напр., після транспортування). Матеріал може бути ущільнений, наприклад, від менш, ніж близько 0,2 г/см³ до більш ніж близько 0,9 г/см³ (наприклад, від менш близько 0,3 до більш ніж близько 0,5 г/см³, від менш близько 0,3 до більш ніж близько 0,9 г/см³, від менш близько 0,5 до більш ніж близько 0,9 г/см³, від менш близько 0,3 до більш ніж близько 0,8 г/см³, від менш близько 0,2 до більш ніж близько 0,5 г/см³). Наприклад, матеріал може бути ущільнений за допомогою методів й устаткування, що описані Medoff у попередній заявці США 7932065 і заявці WO 2008/073186, повний зміст яких включений в дійсний опис шляхом посилання (яку подали 26 жовтня 2007, опублікували англійською мовою й розробили в США), повне розкриття якої включено в цей документ шляхом посилання. Ущільнений матеріал може бути оброблений за допомогою кожного зі способів, що описані в дійсному винаході, або будь-який матеріал, що оброблений кожним зі способів, що описані у дійсному винаході, може бути згодом ущільнений.

[00081] Згідно деяким варіантам реалізації винаходу матеріал, що піддається переробці, перебуває у вигляді волокнистого матеріалу, що містить волокна, які отримані шляхом розрізання джерела волокон. Наприклад, розрізання можна здійснити за допомогою різального інструменту з дисковим ножом.

[00082] Наприклад, джерело волокон, що не піддається обробці або зі зниженим рівнем стійкості до розкладання, можна розрізати, наприклад, у різальному інструменті з дисковим ножом, з одержанням першого волокнистого матеріалу. Перший волокнистий матеріал проходить через перше сито, наприклад, із середнім розміром отвору, що становить 1,59 мм або менше (1/16 дюйма, 0,0625 дюйма), з одержанням другого волокнистого матеріалу. При необхідності, джерело волокна можна розрізати перед подрібненням на частині, наприклад, за допомогою шредера. Наприклад, при застосуванні паперу як джерела волокна, папір можна спочатку перед розсіканням розрізати на смужки шириною, наприклад, від 1/4 до 1/2 дюйма, застосовуючи шредер, наприклад, шредер із гвинтом протилежного обертання, такий як машини, вироблені компанією Munson (Ютіка, Нью-Йорк). Як альтернатива розрізанню на смужки, папір може бути зменшений в розмірах шляхом розрізання до необхідного розміру в гільйотинній різальній машині. Наприклад, гільйотинну різальну машину можна застосовувати для розрізання паперу на аркуші, наприклад, шириною 10 дюймів і довжиною 12 дюймів.

[00083] У деяких варіантах здійснення цього винаходу розрізання джерела волокна й проходження першого волокнистого матеріалу, що утворився, через перше сито здійснюють одночасно. Розрізання й проходження можна також здійснити в періодичному процесі.

[00084] Наприклад, різальний інструмент із дисковим ножом можна застосовувати для одночасного розрізання джерела волокна й просівання першого волокнистого матеріалу.

Різальний інструмент із дисковим ножом містить завантажувальний бункер, який можна завантажити здрібненим джерелом волокна, що отриманий у результаті його подрібнення.

[00085] У деяких варіантах реалізації здрібнене джерело волокна перед оцукрюванням й/або ферментацією обробляють фізичними методами. Способи фізичної обробки можуть включати один або більше з будь-яких способів, що описані у цій заявці, такі як механічна обробка, хімічна обробка, опромінення, обробка ультразвуком, окислення, піроліз або паровий вибух. Способи обробки можна застосовувати в комбінаціях із двома, трьома, чотирма або навіть всіма із зазначених технологій (у будь-якому порядку). При застосуванні більш ніж одного способу обробки, зазначені способи можна використати одночасно або в різний час. Можна також застосовувати інші способи, які змінюють молекулярну структуру сировини з біомаси, окремо або в комбінації зі способами, що описані в цій заявці.

[00086] Механічні обробки, які можуть бути використані, і характеристики механічно оброблюваних матеріалів біомаси докладно описані в публікації заявки на патент США

2012/0100577 A1, поданої 18 жовтня 2011, повне розкриття якої включено в цей документ шляхом посилання.

ОБРОБКА МАТЕРІАЛУ БІОМАСИ - БОМБАРДУВАННЯ ЧАСТКАМИ

[00087] Одну або більше обробок бомбардуванням частками високих енергій можуть використати для обробки матеріалів з вихідної сировини й забезпечення широкого вибору різних джерел з метою вилучення корисних речовин із сировини й одержання частково зруйнованого органічного структурно модифікованого матеріалу, що служить, як завантаження для подальших етапів переробки й/або циклів обробки. Бомбардування частками може зменшити молекулярну масу й/або кристалічність сировини. У деяких варіантах здійснення цього винаходу для обробки описаних матеріалів застосовують енергію, що перебуває в матеріалі, що вивільняє електрон з його атомної орбіталі. Бомбардування може бути здійснене за допомогою важких заряджених часток (таких як альфа-частинки або протони), електронів (отриманих, наприклад, при бета-розпаді або за допомогою електронно-променевих прискорювачів), або електромагнітного випромінювання (наприклад, гамма-променів, рентгенівських променів або ультрафіолетових променів). З іншого боку, для обробки вихідної сировини можна застосовувати випромінювання, яке викликане радіоактивними речовинами.) Будь-яку їхню комбінацію можна використати в будь-якому порядку або одночасно. У ще одному підході, для обробки вихідної сировини можна застосовувати електромагнітне випромінювання (наприклад, викликане застосуванням електронно-променевих емітерів).

[00088] Кожна форма енергії іонізує біомасу за рахунок конкретних взаємодій. Важкі заряджені частинки в основному іонізують матерію за рахунок кулонівського розсіювання; крім того, ці взаємодії створюють швидкі електрони, які можуть додатково іонізувати матерію. Альфа-частинки ідентичні ядру атома гелію й утворюються при альфа-розпаді різних радіоактивних ядер, таких як ізотопи вісмуту, полонію, астату, радону, Франція, радію, деяких актинідів, таких як актиній, торій, уран, нептуній, кюрій, каліфорній, америцій і плутоній.

[00089] При використанні частинок, вони можуть бути нейтральними (незарядженими), позитивно зарядженими або негативно зарядженими. Будучи зарядженими, заряджені частинки можуть містити один позитивний або негативний заряд або кілька зарядів, напр., один, два, три або навіть чотири або більше зарядів. У прикладах, у яких потрібен розрив ланцюга, позитивно заряджені частинки можуть бути кращими, частково, завдяки їхній кислотній природі. При використанні часток, їхня маса може дорівнювати масі електрона в стані спокою або перевищувати її, напр., в 500, 1000, 1500, або 2000 або більше раз. Наприклад, маса часток може становити від близько 1 атомної одиниці до близько 150 атомних одиниць, напр., від близько 1 атомної одиниці до близько 50 атомних одиниць або від близько 1 до близько 25, напр., 1, 2, 3, 4, 5, 10, 12 або 15 атомних одиниць. Прискорювачі, що застосовуються для прискорення часток, можуть бути електростатичними постійного струму, електродинамічними постійного, струму, радіочастотними лінійними, магнітоіндукційними лінійними або безперервного випромінювання. Наприклад, у компанії IBA, Бельгія можна придбати циклотронний тип прискорювачів, такий як система Rhodotron®, при цьому в компанії RDI, тепер IBA Industrial, можна придбати прискорювачі постійного струму, такі як Dynamitron™. Іони й іонні прискорювачі розглянуті в публікаціях Introductory Nuclear Physics, Kenneth S. Krane, John Wiley & Sons, Inc. (1988), Krsto Prelec, FIZIKA B 6 (1997) 4, 177-206, Chu, William T., "Overview of Light-Ion Beam Therapy" Columbus-Ohio, ICRU-IAEA Meeting, 18-20 березня 2006 року, Iwata, Y. et al. "Alternating-Phase-Focused IH-DTL for Heavy-Ion Medical Accelerators" Proceedings of EP AC 2006, Единбург, Шотландія й Leitner, C.M. et al., "Status of the Superconducting ECR Ion Source Venus" Proceedings of EPAC 2000, Відень, Австрія.

[00090] Дози, що застосовуються, ґрунтуються на бажаному ефекті й конкретній сировині. Наприклад, високі дози можуть розірвати хімічні зв'язки компонентів сировини, а низькі дози можуть збільшити хімічне зв'язування (напр., зшивання) компонентів сировини.

[00091] У деяких випадках, коли бажаний розрив ланцюга й/або потрібна функціоналізація полімерного ланцюга, можна використати частинки, що більш важкі, ніж електрони, такі як протони, ядра гелію, іони аргону, іони кремнію, іони неону, іони вуглецю, іони фосфору, іони кисню або іони азоту. При необхідності розриву ланцюга з розкриттям циклу, для стимулювання цього процесу можна використати позитивно заряджені частинки, завдяки їхнім властивостям кислот Льюїса, для досягнення розриву ланцюга з розкриттям циклу. Наприклад, коли потрібні кисень-утримуючі функціональні групи, використовують обробку в присутності кисню або навіть обробку іонами кисню. Наприклад, коли потрібні азот-утримуючі функціональні групи, використовують обробку в присутності азоту або навіть обробку іонами азоту.

ІНШІ ВИДИ ЕНЕРГІЇ

[00092] Електрони, які взаємодіють за рахунок кулонівського розсіювання й гальмівного випромінювання, одержують за допомогою змін швидкості електронів. Електрони одержують за допомогою радіонукліда, що піддається дії бета-розпаду, такого як ізографи йоду, цезію, технецію й іридію. З іншого боку, електронна гармата може бути використана як джерело електронів за рахунок термоелектронної емісії.

[00093] Електромагнітне випромінювання взаємодіє за рахунок трьох процесів: фотоелектричного поглинання, комптонівського розсіювання й народження електронно-позитронних пар. Домінуючу взаємодію визначають за допомогою енергії падаючого випромінювання й атомного номера матеріалу. Додавання взаємодій, що сприяють випромінюванню, поглиненому в целюлозному матеріалі, може бути виражено за допомогою питомого коефіцієнта абсорбції.

[00094] Електромагнітне випромінювання залежно від довжини хвилі підрозділяють на гамма-промені, рентгенівські промені, ультрафіолетові промені, інфрачервоні промені, мікрохвилі або радіохвилі.

[00095] Наприклад, гамма-випромінювання може бути використано для обробки матеріалів. Гамма-випромінювання має переваги в значній глибині проникнення в зразки різних матеріалів. Джерела гамма-променів містять радіонуклід, такий як ізографи кобальту, кальцію, технецію, хрому, галію, індію, йоду, заліза, криптону, самарію, селену, натрію, талію й ксенону.

[00096] Джерела рентгенівських променів містять електропроменеві зіткнення з металевими цілями, такими як вольфрам або молибден, або сплавами, або щільними джерелами світла, такими як ті, які комерційно виробляє Lyncan.

[00097] Джерела ультрафіолетового випромінювання містять дейтерієві або кадмієві лампи.

[00098] Джерела інфрачервоного випромінювання містять сапфір, цинк або лампу з керамічним випромінювачем і селенідним хвилевидним вікном.

[00099] Джерела мікрохвиль містять клістри, ВЧ-джерело типу Слевіна або джерела пучка атомів, які використовують гази водень, кисень або азот.

[000100] В описаних в цьому документі способах можуть бути використані інші різні пристрої, включаючи джерела іонізації полем, електростатичні роздільники іонів, генератори іонізації полем, джерела термоелектронної емісії, джерела надвисокочастотних іонних розрядів, рециркуляційний або статичний прискорювачі, динамічні лінійні прискорювачі заряджених часток, прискорювачі Ван де Граафа й петлеві тандемні прискорювачі. Такі пристрої описані, наприклад, у патенті США № 7931784 В2, повне розкриття якого включено в цей документ шляхом посилання.

ОБРОБКА МАТЕРІАЛУ БІОМАСИ - ОПРОМІНЕННЯ ЕЛЕКТРОНАМИ

[000101] Сировина може бути оброблена опроміненням електронами для того, щоб модифікувати її структуру й тим самим знизити її стійкість. Подібна обробка може, наприклад, знизити середню молекулярну масу сировини, змінити кристалічну структуру сировини й/або збільшити площу поверхні й/або пористість сировини.

[000102] Опромінення електронами за допомогою електронного пучка звичайно є кращим, тому, що воно забезпечує дуже високу пропускну здатність і тому використання пристрою з низькою напругою/високою потужністю електронного пучка усуває необхідність у дорогому захисті за допомогою залізобетонного вкриття, оскільки такі пристрої є "самоекранованими" і забезпечують безпечний, ефективний процес. У той час як "самоекрановані" пристрої дійсно включають захист (напр., захист за допомогою металевого листа), вони не вимагають будівництва залізобетонного вкриття, що значно знижує капітальні витрати й часто дозволяє існувати виробництву, що буде використовуватися без дорогої модифікації. Електроннопроменеві прискорювачі доступні, наприклад, від IBA (Ion Beam Applications, Лувен-Ла-Нев, Бельгія), Titan Corporation (Сан Дієго, Каліфорнія, США), і NHV Corporation (Nippon High Voltage, Японія).

[000103] Опромінення електронами проводять із використанням пристроїв з електронним променем, що має номінальну енергію менш 10 MeV, напр., менше ніж 7 MeV, менше ніж 5 MeV, або менше ніж 2 MeV, напр., від приблизно 0,5 до 1,5 MeV, від приблизно 0,8 до 1,8 MeV, від приблизно 0,7 до 1 MeV, або від приблизно 1 до 3 MeV. У деяких варіантах реалізації номінальна енергія становить приблизно від 500 до 800 keV.

[000104] Пучок електронів може мати відносно високу загальну потужність, пучка (комбінована потужність пучка всіх прискорювальних голівок, або, якщо використовуються різні прискорювачі, всіх прискорювачів і всіх голівок), напр., щонайменше 25 кв, напр., щонайменше 30, 40, 50, 60, 65, 70, 80, 100, 125, або 150 кв. У деяких випадках, потужності становлять навіть

вище, ніж 500 кв, 750 кв, або навіть 1000 кв або більше. У деяких випадках пучок електронів має потужність променя 1200 кв або більше.

[000105] Така висока сумарна потужність променя зазвичай досягається шляхом застосування багатопромених прискорювальних голівок. Наприклад, електронно-променевий пристрій може включати дві, чотири або більше прискорювальних голівок. Застосування багатопромених голівок, потужність променя кожної з яких порівняно низька, перешкоджає надмірному підвищенню температури матеріалу, запобігаючи, тим самим, горінню матеріалу й також збільшує однорідність дози, що проходить через товщу шару матеріалу.

[000106] У деяких варіантах реалізації, бажано охолоджувати матеріал протягом опромінення електронами. Наприклад, матеріал може бути охолоджений під час його транспортування, наприклад, за допомогою шнекового екструдера або іншого транспортуючого устаткування.

[000107] Для того, щоб знизити енергію, необхідну для процесу зниження стійкості, бажано обробити матеріал настільки швидко, наскільки це можливо. Загалом, бажано, щоб обробку проводили при потужності дози більше, ніж приблизно 0,25 Мрад в секунду, напр., більше, ніж приблизно 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 5, 7, 10, 12, 15, або навіть більше, ніж приблизно 20 Мрад в секунду, напр., приблизно від 0,25 до 2 Мрад в секунду. Більш високі потужності дози зазвичай вимагають більш високих швидкостей лінії, щоб уникнути термічного розкладання матеріалу. В окремому застосуванні, прискорювач встановлюють на 3 МеВ, струм пучка 50 мА, а швидкість лінії 24 фути/хвилину, при товщині зразка приблизно 20 мм (напр., здрібнений матеріал стрижнів качанів кукурудзи з об'ємною щільністю 0,5 г/см³).

[000108] У деяких варіантах здійснення цього винаходу опромінення електронами здійснюють доти, поки матеріал не одержить загальну дозу щонайменше 0,5 Мрад, напр., щонайменше 5, 10, 20, 30 або щонайменше 40 Мрад. У деяких варіантах здійснення цього винаходу обробку здійснюють доти, поки матеріал не одержить дозу від приблизно 0,5 Мрад до приблизно 150 Мрад, від приблизно 1 Мрад до приблизно 100 Мрад, від приблизно 2 Мрад до приблизно 75 Мрад, від 10 Мрад до приблизно 50 Мрад, напр., від приблизно 5 Мрад до приблизно 50 Мрад, від приблизно 20 Мрад до приблизно 40 Мрад, від приблизно 10 Мрад до приблизно 35 Мрад, або від приблизно 25 Мрад до приблизно 30 Мрад. У деяких варіантах реалізації переважною є загальна доза від 25 до 35 Мрад, застосовується, в ідеалі, пару секунд, напр., при 5 Мрад/пропускання, у кожному проході вони застосовуються приблизно протягом однієї секунди. Застосування дози більшої, ніж 7 до 8 Мрад/пропускання, у деяких випадках може викликати термічне розкладання сировини матеріалу.

[000109] При використанні декількох голівок, як обговорювалося вище, матеріал може бути оброблений у кілька пропусків, наприклад, два пропускання від 10 до 20 Мрад/пропускання, напр., від 12 до 18 Мрад/пропускання, розділених кількома секундами охолодження, або три пропускання від 7 до 12 Мрад/пропускання, напр., від 9 до 11 Мрад/пропускання. Як обговорювалося вище, обробка матеріалу декількома відносно низькими дозами, а не однією великою дозою, як правило, запобігає перегріву матеріалу, а також збільшує однорідність розподілу дози по товщині матеріалу. У деяких варіантах реалізації, матеріал перемішують або, іншим способом заважають під час, або після, кожного пропускання й потім знову розгладжують до рівномірного шару перед наступним пропусканням, для подальшого підвищення рівномірності обробки.

[000110] У деяких варіантах здійснення цього винаходу електрони прискорюються до, наприклад, швидкості більше, ніж 75 відсотків від швидкості світла, напр., більше, ніж 85, 90, 95, або 99 відсотків від швидкості світла.

[000111] У деяких варіантах здійснення цього винаходу будь-які переробки, що описані в цьому документі, здійснюють із лігноцелюлозним матеріалом, що залишається сухим, таким як і був придбаний, або був висушений, напр., з використанням тепла й/або зниженого тиску. Наприклад, у деяких варіантах здійснення цього винаходу целюлозний й/або лігноцелюлозний матеріал має за масою менше, ніж приблизно п'ять відсотків води, що утримується, яка виміряна при 25°C і відносній вологості п'ятдесят відсотків.

[000112] Може бути застосоване опромінення електронами, у той час як целюлозний й/або лігноцелюлозний матеріал піддають впливу повітря, збагаченого киснем повітря, або навіть самого кисню, або покриття інертним газом, таким як азот, аргон або гелій. Якщо є бажаним максимальне окислення, використовують середовище, що окисляє, таке як повітря або кисень, а відстань від джерела пучка оптимізують для максимізації утворення реакційно-здатного газу, напр., озону й/або оксидів азоту.

[000113] В деяких варіантах здійснення цього винаходу застосовують два або більше джерела випромінювання, наприклад, два або більше іонізуючі випромінювання. Наприклад,

зразки можна обробити, у будь-якому порядку, за допомогою електронного променя, а потім гамма-випромінюванням й УФ-світлом з довжинами хвиль від приблизно 100 нм до приблизно 280 нм. У деяких варіантах здійснення цього винаходу зразки обробляють із застосуванням трьох джерел іонізуючого випромінювання, наприклад, за допомогою електронного променя, гамма-випромінювання й УФ-світла високої енергії. Біомасу транспортують через зону обробки, де її опромінюють електронами. Як правило, бажано, щоб шар матеріалу біомаси під час обробки мав відносно рівномірну товщину, як описано вище.

[000114] Може бути вигідним повторення обробки до більш повного зниження стійкості біомаси й/або подальшої модифікації біомаси. Зокрема, параметри процесу можна регулювати після першого (напр., другого, третього, четвертого або більше) пропускання, залежно від стійкості матеріалу. У деяких варіантах здійснення цього винаходу може бути використаний конвеєр, що містить кругову систему, у якій біомасу транспортують декілька раз через різні процеси, що описані вище. У деяких інших варіантах здійснення цього винаходу для обробки біомаси використовують кілька пристроїв обробки (напр., електроннопроменеві генератори) (напр., 2, 3, 4 або більше раз). У декількох додаткових варіантах здійснення цього винаходу один електроннопроменевий генератор може бути джерелом декількох променів (напр., 2, 3, 4 або більше променів), які можуть бути використані для обробки біомаси.

[000115] Ефективність зміни молекулярної/надмолекулярної структури й/або зниження стійкості біомаси заснована на використанні енергії електрона й дози, яка застосовується, у той час як час експозиції залежить від потужності й дози.

[000116] У деяких варіантах здійснення цього винаходу обробку (з будь-яким джерелом електронів або комбінацією джерел) здійснюють доти, поки матеріал не одержить дозу щонайменше приблизно 0,05 Мрад, напр., щонайменше близько 0,1, 0,25, 0,5, 0,75, 1,0, 2,5, 5,0, 7,5, 10,0, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175, або 200 Мрад. У деяких варіантах здійснення цього винаходу обробку здійснюють доти, поки матеріал не одержить дозу між 0,1 й 100 Мрад, 1 й 200, 5 й 200, 10 й 200, 5 й 150, 5 й 100, 5 й 50, 5 й 40, 10 й 50, 10 й 75, 15 й 50, 20 й 35 Мрад.

[000117] В деяких варіантах здійснення цього винаходу обробку здійснюють при потужності дози між 5,0 й 1500,0 крад/годину, напр., між 10,0 й 750,0 крад/годину або між 50,0 й 350,0 крад/годину. В інших варіантах здійснення цього винаходу обробку здійснюють при потужності дози між 10 й 10000 крад/годину, між 100 й 1000 крад/годину, або між 500 й 1000 крад/годину.

ДЖЕРЕЛА ЕЛЕКТРОНІВ

[000118] Електрони, які взаємодіють за рахунок кулонівського розсіювання й гальмівного випромінювання, одержують за допомогою змін швидкості електронів. Електрони одержують за допомогою радіонукліда, який зазнає бета-розпаду, такого як ізотопи йоду, цезію, технецію й іридію. З іншого боку, електронна гармата може бути використана як джерело електронів, що отримані за рахунок термоелектронної емісії й прискорених за рахунок прискорювального потенціалу. Електронна гармата генерує електрони, які прискорюються за рахунок великого потенціалу (напр., більше, ніж близько 500 тисяч, більше, ніж близько 1 мільйон, більше, ніж близько 2 мільйони, більше, ніж близько 5 мільйонів, більше, ніж близько 6 мільйонів, більше, ніж близько 7 мільйонів, більше, ніж близько 8 мільйонів, більше, ніж близько 9 мільйонів або навіть більше, ніж 10 мільйонів вольтів), а потім сканують його магнітом у площині XY, де електрони спочатку прискорюються в напрямку по осі Z, рухаються уздовж трубки й виводяться через вікно з алюмінієвої фольги. Сканування електронного пучка сприяє збільшенню поверхні опромінення при опроміненні матеріалів, напр., біомаси, що транспортують через скануючий промінь. Сканування електронного пучка також розподіляє теплове навантаження рівномірно на вікно й допомагає зменшити розриви віконної фольги через локальне нагрівання електронним пучком. Розрив фольги у вікні є причиною тривалого простою через наступні необхідні ремонтні роботи й повторний запуск електронної гармати.

[000119] У способах, що описані у цьому документі, можуть використовувати різні інші пристрої, що опромінюють, які містять джерела іонізації полем, електростатичні роздільники іонів, генератори іонізації полем, джерела термоелектронної емісії, джерела іонного надвисокочастотного розряду, рециркуляційні або статичні прискорювачі, динамічний лінійний прискорювач заряджених часток, прискорювачі Ван де Граафа й петлеві тандемні прискорювачі. Такі пристрої описані Medoff, наприклад, у патенті США № 7931784, повне розкриття якого включене в цей документ шляхом посилання.

[000120] Відповідно до деяких варіантів реалізації винаходу, як джерело випромінювання застосовують електронний промінь. Електронний промінь має переваги, пов'язані з високими потужностями дози випромінювання (наприклад, 1,5 або навіть 10 Мрад у секунду), високою продуктивністю, більш слабким утриманням і меншими обмеженнями відносно встаткування.

Електрон променів також може мати високий електричний коефіцієнт корисної дії (напр., 80%), що дозволяє досягти використання більше низької енергії в порівнянні з іншими способами випромінювання, що може привести до більше низької вартості експлуатації й зниженню викидів парникових газів, що відповідають меншій кількості енергії, що використовують. Електронні промені можна створити, наприклад, за допомогою електростатичних генераторів, каскадних генераторів, трансформаторних генераторів, низькоенергетичних прискорювачів зі скануючою системою, низькоенергетичних прискорювачів з лінійним катодом, лінійних прискорювачів й імпульсних прискорювачів.

[000121] Електрони також можуть бути більше ефективними в тому, що служать джерелом змін молекулярної структури біомаси матеріалів, наприклад, стимулювання розриву ланцюга. Крім цього, електрони, які мають енергії 0,5-10 MeV, можуть проникати в матеріали з низькою щільністю, такі як матеріали біомаси, описані в цьому документі, напр., матеріали, які мають об'ємну щільність менш, ніж 0,5 г/см³, і товщину 0,3-10 див. Електрони можуть бути корисними як джерело іонізуючого випромінювання, напр., у випадку щодо тонких стопок, шарів або пластів матеріалів, напр., менш, ніж близько 0,5 дюйма, напр., менш, ніж близько 0,4 дюйма, 0,3 дюйма, 0,25 дюйма або менш, ніж близько 0,1 дюйма. У деяких варіантах здійснення цього винаходу енергія кожного пучка електронів становить від близько 0,3 MeV до близько 2,0 MeV (мільйон електрон-вольтів), напр., від близько 0,5 MeV до близько 1,5 MeV, або від близько 0,7 MeV до близько 1,25 MeV. Способи опромінення матеріалів обговорюються в публікації заявки на патент США 2012/0100577 A1, поданої 18 жовтня 2011, повне розкриття якої включено в цей документ шляхом посилання.

[000122] Пристрої для електропроменевого опромінення можна придбати в компаній Ion Ion Beam Applications (Лувен-Ла-Нев, Бельгія), Titan Corporation (Сан Дієго, Каліфорнія, США) і NHV Corporation (Nippon High Voltage, Японія). Типові енергії електронів можуть становити 0,5 MeV, 1 MeV, 2 MeV, 4,5 MeV, 7,5 MeV або 10 MeV. Потужність типового пристрою для електропроменевого опромінення може становити 1 кВ, 5 кВ, 10 кВ, 20 кВ, 50 кВ, 60 кВ, 70 кВ, 80 кВ, 90 кВ, 100 кВ, 125 кВ, 150 кВ, 175 кВ, 200 кВ, 250 кВ, 300 кВ, 350 кВ, 400 кВ, 450 кВ, 500 кВ, 600 кВ, 700 кВ, 800 кВ, 900 кВ або навіть 1000 кВ.

[000123] Для вибору компромісних рішень при розгляді характеристик енергоспоживання пристроїв електроннопроменевого опромінення, розглядають вартість експлуатації, загальні витрати, амортизацію обладнання й вплив пристрою на навколишнє середовище. Для вибору компромісних рішень при розгляді рівнів дози опромінення, при опроміненні пучком електронів, використовують вартість енергії й принципи захисту навколишнього середовища, надійності й здоров'я (ESH). Як правило, генератори розміщені в укритті, напр., свинцевому або залізобетонному, особливо при одержанні рентгенівського випромінювання, які одержують у процесі. Вибір компромісних рішень при розгляді енергії електрона основують на вартості енергії.

[000124] Пристрій електроннопроменевого опромінення може генерувати або нерухомий пучок, або скануючий пучок. Скануючий пучок може бути вигідний при великій довжині розгорнення сканування й високій швидкості сканування, тому що це ефективно заміняє більшу, фіксовану ширину пучка. Надалі, доступні ширини розгорнення 0,5 м, 1 м, 2 м або більше. У більшості варіантів здійснення цього винаходу є кращим скануючий пучок, який описаний у цьому документі, з огляду на більшу ширину сканування й зниження можливості локального нагрівання й руйнування вікон.

ОБРОБКА МАТЕРІАЛУ БІОМАСИ - ОБРОБКА УЛЬТРАЗВУКОМ, ПІРОЛІЗ, ОКИСЛЮВАННЯ, ПАРОВИЙ ВИБУХ

[000125] За необхідності, крім цього, можна використати один або більше способів, обраних з обробки ультразвуком, піролізу й окислювання, на додаток до, або замість, іншим обробкам для подальшого зниження стійкості матеріалу біомаси. Ці процеси можуть бути застосовані перед, протягом й/або після іншої обробки або обробок. Ці процеси докладно описані Medoff у патенті США № 7932065, повне розкриття якого включено в цей документ шляхом посилання.

ВИКОРИСТАННЯ ОБРОБЛЕНОГО МАТЕРІАЛУ БІОМАСИ

[000126] При використанні способів, описаних у цьому документі, вихідний матеріал біомаси (напр., біомаса рослин, біомаса тварин, папір і біомаса побутових відходів) може бути використана як сировина для одержання корисних проміжних сполук і продуктів, таких як органічні кислоти, солі органічних кислот, ангідриди, складні ефіри органічних кислот і палива, напр., палива для двигунів внутрішнього згорання або сировина для паливних елементів. Системи й процеси, описані в цьому документі, можуть використати як сировину легкодоступні целюлозні й/або лігноцелюлозні матеріали, але найчастіше можуть виникнути проблеми з

обробкою, напр., потоків побутових відходів і потоків відходів паперу, таких як потоки, що містять газети, пакувальний папір, гофрований папер або їхньої суміші.

[000127] Для того, щоб перетворити сировину у форму, яка може бути легко перероблена, глюкан- або целюлоза сировини, що містить ксилан, може бути гідролізована до вуглеводів з низькою молекулярною масою, таких як цукру, за допомогою оцукрюючого засобу, напр., ферменту або кислоти, такий процес називають оцукрювання. Вуглеводи з низькою молекулярною масою можуть потім використати, наприклад, на існуючому промисловому підприємстві, такі як завод з виробництва одноклітинного білка, або промислове підприємство з виробництва ферментів або промислове підприємство з виробництва палива, напр., виробниче підприємство з виробництва етанолу.

[000128] Сировина може бути гідролізована з використанням ферменту, напр., за допомогою комбінування матеріалів і ферменту в розчиннику, напр., у водяному розчині.

[000129] З іншого боку, ферменти можуть бути надані організмами, які розщеплюють біомасу, таку як целюлозні й/або лігнінові частини біомаси, містять або роблять різні целюлолітичні ферменти (целюлази), лігнінази або різні низькомолекулярні руйнуючі біомасу метаболіти. Ці ферменти можуть бути комплексом ферментів, що синергетично взаємодіє для розкладання кристалічної целюлозної або лігнінової частини біомаси. Приклади целюлолітичних ферментів містять: ендоглюканази, целобіогідролази й целобіази (бета-глюкозидази).

[000130] Протягом оцукрювання целюлозний субстрат спочатку гідролізують за допомогою ендоглюканази у випадкових місцях з одержанням олігомерних проміжних сполук. Ці проміжні сполуки являють собою субстрати екзо-розщеплюючих глюканаз, таких як целобіогідролаза, для одержання целобіози з кінцевих груп целюлозного полімеру. Целобіоза являє собою водорозчинний 1,4-зв'язаний димер глюкози. Нарешті, целобіаза розщеплює целобіозу з утворенням глюкози. Ефективність (напр., час для того, щоб гідролізувати й/або повнота гідролізу) цього процесу залежить від стійкості целюлозного матеріалу.

ПРОМІЖНІ СПОЛУКИ Й ПРОДУКТИ

[000131] Процеси, що описані в цьому документі, переважно використовують для одержання бутанолу, напр., ізобутанолу або н-бутанолу та їх похідних. Проте, процеси можуть використати для одержання інших продуктів, побічних продуктів і проміжних сполук, наприклад, продуктів, що описані у публікації заявки на патент США 2012/0100577 A1, поданої 18 жовтня 2011, і опублікованої 26 квітня 2012, повне розкриття якої включене в цей документ шляхом посилання.

[000132] Застосовуючи способи, що описані в цій заявці, можна перетворити оброблену біомасу в один або більше продуктів, таких як енергія, паливо, харчові продукти й матеріали. Деякі приклади продуктів включають, але не обмежуються такими, як, водень, цукри (напр., глюкоза, ксиліоза, арабіноза, манноза, галактоза, фруктоза, дисахариди, олігосахариди й полісахариди), спирти (напр., одноатомні спирти або двоатомні спирти, такі як етанол, н-пропанол, ізобутанол, вторинний бутіловий спирт, третинний бутіловий спирт або н-бутанол), гідратовані або водні спирти (напр., що містять більше ніж 10%, 20 %, 30% або навіть більше ніж 40% води), біодизельне паливо, органічні кислоти, вуглеводні (напр., метан, етан, пропан, ізобутен, н-гексан, біодизель, біобензин та їхні суміші), побічні продукти (напр., білки, такі як целюлолітичні білки (ферменти) або білки одноклітинних), і суміші будь-яких з перерахованих продуктів у будь-якій комбінації або відносній концентрації й, при необхідності, в комбінації з будь-якими добавками (напр., паливними добавками). Інші приклади включають карбонові кислоти, солі карбонової кислоти, суміш карбонових кислот і солей карбонових кислот, і складні ефіри карбонових кислот (напр., метилові, етилові й н-пропілові складні ефіри), кетони (напр., ацетон), альдегіди (напр., ацетальдегід), альфа й бета ненасичені кислоти (напр., акрилова кислота) і олефіни (напр., етилен). Інші спирти й похідні спиртів включають пропанол, пропіленгліколь, 1,4-бутандіол, 1,3-пропандіол, цукрові спирти й поліоли (напр., гліколь, гліцерин, еритрит, треїт, арабіт, ксиліт, рибіт, маніт, сорбіт, галактит, ідит, інозит, волеміт, ізомальт, мальтит, лактат, мальтотриїт, мальтотетраїт, полігліцит та інші поліоли), метилові або етилові складні ефіри будь-яких із зазначених спиртів. Інші продукти включають метилакрилат, метилметакрилат, молочну кислоту, лимонну кислоту, мурашину кислоту, оцтову кислоту, пропіонову кислоту, масляну кислоту, бурштинову кислоту, валеріанову кислоту, капронову кислоту, 3-гідроксипропіонову кислоту, пальмітинову кислоту, стеаринову кислоту, щавлеву кислоту, малонову кислоту, глутарову кислоту, олеїнову кислоту, лінолеву кислоту, гліколеву кислоту, γ -гідроксимасляну кислоту і їхні суміші, сіль кожної із зазначених кислот, або суміші будь-яких з кислот й їхні відповідні солі, сіль кожної з кислот і суміші з будь-яких кислот і відповідних солей.

[000133] Будь-яка комбінація вищевказаних продуктів один з одним, і/або вищевказаних продуктів з іншими продуктами, при чому інші продукти можуть бути зроблені за допомогою процесів, що описані у цьому документі, або, у протилежному випадку, можуть бути впаковані разом і продаються як продукти. Продукти можуть бути об'єднані, напр., змішані, гомогенізовані або спільно розчинені, або можуть бути просто впаковані й продані разом.

[000134] Будь-які продукти або комбінації продуктів, що описані в цьому документі, можна продезінфікувати або стерилізувати до продажу продуктів, напр., після очищення або виділення або навіть після впакування, щоб нейтралізувати одну або більш потенційно небажаних домішок, що можуть бути присутніми у продукті(ях). Подібна дезінфекція може бути здійснена за допомогою опромінення електронами, наприклад, при дозуванні менш, ніж близько 20 Мрад, напр., від близько 0,1 до 15 Мрад, від близько 0,5 до 7 Мрад або від близько 1 до 3 Мрад.

[000135] Процеси, що описані в цьому документі, можуть робити потоки різних субпродуктів, корисних для утворення пари й електрики, що буде використатися в інших частинах заводу (когенерація) або будуть продані на відкритому ринку. Наприклад, пара, отримана від спалювання потоків субпродуктів, може бути використана у процесі дистиляції. Як інший приклад, електрика, що виробляється при спалюванні потоків побічних продуктів, може бути використана для електричних електроннопроменевих генераторів, що використовуються при попередній обробці.

[000136] Побічні продукти, що використовуються для одержання пари й електрики одержують із ряду джерел протягом усього процесу. Наприклад, при анаеробному збролінні стічних вод можуть робити біогаз із високим вмістом метану й невеликою кількістю відходів біомаси (шламу). Як інший приклад, після оцукрювання й/або після дистилювання твердих речовин (напр., непрореагований лігнін, целюлоза, геміцелюлоза, що залишилися від попередньої обробки й попередніх процесів) можуть бути, напр., спалені, як паливо.

[000137] Багато з одержаних продуктів, таких як етанол або н-бутанол, можуть бути використані як паливо для харчування автомобілів, вантажівок, тракторів, судів або поїздів, наприклад, як паливо для двигунів внутрішнього згоряння або як сировина для паливних елементів. Багато хто з отриманих продуктів також можуть бути використані як паливо для повітряних літальних апаратів, таких як літаки, напр., що мають реактивні двигуни або вертольоти. Крім того, продукти, що описані тут, можуть бути використані для одержання електроенергії, наприклад, у звичайній паропродуктивній установці або в установці на паливних елементах.

[000138] Інші проміжні сполуки й продукти, у тому числі, харчові й фармацевтичні продукти, описані Medoff у публікації заявки на патент США 2010/0124583 A1, опублікованої 20 травня 2010, повне розкриття якої включене шляхом посилання в цьому документі.

ОЦУКРЮВАННЯ

[000139] Для того, щоб одержати розчин фруктози із сировини зі зниженою стійкістю, оцукрюють оброблені матеріали біомаси, а потім сировину й необов'язково очищують, як правило, за допомогою комбінування матеріалу й ферменту целюлази в рідкому середовищі, напр., водяному розчині. У деяких випадках, матеріал кип'ятять, розмочують або готують у гарячій воді до оцукрювання, як описано Medoff й Masterman у публікації заявки на патент США 2012/0100577 A1, що опублікована 26 квітня 2012, повний зміст якої включено в цей документ.

[000140] Процес оцукрювання може бути частково або повністю виконаний у ємності (напр., ємність має об'єм щонайменше 4000, 40000 або 500000 л) на промисловому підприємстві, і/або може бути частково або повністю виконаний в дорозі, напр., у залізничному вагоні, автоцистерні, у супертанкері або трюмі корабля. Час, що необхідний для повного оцукрювання, буде залежати від умов процесу, матеріалу біомаси й ферменту, який буде використаний. Якщо оцукрювання виконується у виробничому підприємстві в контрольованих умовах, целюлоза може бути практично повністю перетворена в цукор, напр., глюкозу, за близько 12-96 годин. Якщо оцукрювання виконується частково або повністю в шляхи, оцукрювання може зайняти більше часу.

[000141] Зазвичай є кращим, щоб вміст ємності перемішували протягом оцукрювання, напр., з використанням струминного перемішування, як описано в міжнародній заявці № PCT/US2010/035331, поданій 18 травня 2010, що опублікована англійською мовою під № WO 2010/135380 і розроблена для США, повне розкриття якої включене в цей документ шляхом посилання.

[000142] Додавання активних-поверхнево-активних речовин може поліпшити швидкість оцукрювання. Приклади активних-поверхнево-активних речовин містять неіонні поверхнево-активні речовини, такі як поверхнево-активні речовини Tween® 20 або Tween® 80 на основі

поліетиленгліколя, іонні поверхнево-активні речовини або амфотерні поверхнево-активні речовини.

[000143] В цілому, переважно, щоб кінцева концентрація глюкози в цукровому розчині при оцукрюванні була порівняно високою, наприклад, більше, ніж 40% або більше, ніж 50, 60, 70, 80, 90 або навіть більше, ніж 95 % за масою. Воду можна видалити, напр., за допомогою випарювання, для збільшення концентрації в розчині цукру. Це зменшує об'єм, що підлягає перевезенню, а також придушує ріст мікробів у розчині.

[000144] Концентрація розчинів фруктози, наприклад, після ізомеризації оцукреного розчину, може бути від близько 1 до 40 %. Наприклад, від близько 5 до 40 %, від близько 10 до 40 %, від близько 15 до 40 %, від близько 5 до 10 %, від близько 10 % до 30 % і від близько 30 % до 40 %.

[000145] Також можуть бути використані інші джерела фруктози. Наприклад, фруктоза може бути отримана з меляси. Деякі приклади різних видів меляси являють собою мелясу на основі цукрового очерету, мелясу на основі цитрусових, мелясу на основі крохмалю, сиру мелясу й/або мелясу на основі цукрового буряка. Глюкоза в мелясі може бути в діапазоні від близько 30 % до 70 % (напр., від 40 % до 60 %, напр., від 45 % до 55 %) загальної кількості глюкози/фруктози, наприклад, високий вміст фруктози в кукурудзяному сиропі становить 55 % фруктози й 45 % глюкози. Екстракти із фруктів також можуть бути джерелом продуктів з високим вмістом фруктози, екстракт агави може мати 90 % фруктози й 10 % глюкози. Ізомеризація розчинів глюкози може збільшувати концентрацію розчинів глюкози і є ще одним джерелом фруктози. Ізомеризація може бути здійснена за допомогою ізомераз, як обговорювалося в цьому документі. Іншим джерелом фруктози є гідроліз сахарози, наприклад, з використанням ферменту (напр., сахарози), з використанням і кислоти й/або з використанням основи.

[000146] З іншого боку, можна використати більш низькі концентрації, у цьому випадку може бути бажаним додавання протимікробної добавки, наприклад, антибіотика широкого спектра дії при низькій концентрації, наприклад, від 50 до 150 ч./млн. Інші придатні антибіотики включають амфотерицин В, ампіцилін, хлорамфенікол, ципрофлоксацин, гентаміцин, гігromіцин В, канаміцин, неоміцин, пеніцилін, пуроміцин, стрептоміцин. Антибіотики будуть інгібувати ріст мікроорганізмів при транспортуванні й зберіганні, і можуть бути використані при придатних концентраціях, напр., між 15 й 1000 ч./млн. за масою, напр., між 25 й 500 ч./млн., або між 50 й 150 ч./млн. За необхідності, може міститися антибіотик, навіть якщо концентрація цукру порівняно висока. З іншого боку, можуть використовуватися інші добавки з антимікробними властивостями. Кращою є антимікробна добавка(и) для харчових продуктів.

[000147] Відносно високу концентрацію розчину можна одержати шляхом обмеження кількості середовища, наприклад, води, що додається до вихідної сировини з ферментом. Концентрацію можна контролювати, напр., регулюючи інтенсивність процесу оцукрювання. Наприклад, концентрацію можна збільшити додаванням у розчин більшої кількості вихідної сировини. Для того, щоб підтримувати цукор, одержуваний у розчині, можуть додавати поверхнево-активну речовину, напр., одну з тих, які обговорювалися вище. Розчинність також може бути підвищена за допомогою збільшення температури розчину. Наприклад, розчин може підтримуватися при температурі 40-50°C, 60-80°C або навіть вище.

[000148] За допомогою додавання глюкози ізомераз до вмісту ємності, можуть одержати високу концентрацію фруктози без оцукрювання, інгібується в ємності за допомогою цукрів. Глюкоза ізомераз може бути додана в будь-якій кількості. Наприклад, концентрація може бути нижче близько 500 од./г целюлози (менше ніж, або рівна 100 од./г целюлози, менше ніж, або рівна 50 од./г целюлози, менше ніж, або рівної 10 од./г целюлози, менше ніж, або рівної 5 од./г целюлози). Концентрація становить щонайменше близько 0Д од./г целюлози (щонайменше близько 0,5 од./г целюлози, щонайменше близько 1 од./г целюлози, щонайменше близько 2 од./г целюлози, щонайменше близько 3 од./г целюлози).

[000149] Додавання глюкози ізомераз збільшує кількість цукрів, які одержують, на щонайменше 5 % (щонайменше 10 %, щонайменше до 15 %, щонайменше 20 %).

[000150] Концентрація цукру в розчині також може бути підвищена шляхом обмеження кількості доданої води до сировини з ферментом й/або концентрація може бути збільшена шляхом додавання більшої кількості сировини в розчин під час оцукрювання. Для того, щоб зберегти цукор, що виходить з розчину, може бути додана поверхнево-активна речовина, напр., одна з тих, які обговорювалися вище. Розчинність також може бути збільшена за рахунок збільшення температури розчину. Наприклад, розчин може підтримуватися при температурі 40-50°C, 60-80°C, або навіть вище.

ОЦУКРЮЮЧІ ЗАСОБИ

[000151] Придатні целюлолітичні ферменти містять целюлази, які представляють собою види з родів *Bacillus*, *Coprinus*, *Myceliophthora*, *Cephalosporium*, *Scytalidium*, *Penicillium*,

Aspergillus, Pseudomonas, Humicola, Fusarium, Thielavia, Acremonium, Chrysosporum й Trichoderma, особливо тих, які одержують за допомогою штаму, обраного з видів Aspergillus (дивися, напр., публікацію заявки EP № 0458162), Humicola insolens (перекласифікована як Scytalidium thermophilum, дивися, напр., патент США № 4435307), Coprinus cinereus, Fusarium oxysporum, Myceliophthora thermophila, Meripilus giganteus, Thielavia terrestris, Acremonium sp. (які містять, але без обмеження ними, A. persicinum, A. acremonium, A. brachypenium, A. dichromosporum, A. obclavatum, A. pinkertoniae, A. roseogriseum, A. incoloratum, і A. furatum). Кращі штами містять Humicola insolens DSM 1800, Fusarium oxysporum DSM 2672, Myceliophthora thermophila CBS 117.65, Cephalosporium sp. RYM-202, Acremonium sp. CBS 478.94, Acremonium sp. CBS 265.95, Acremonium persicinum CBS 169.65, Acremonium acremonium AHU 9519, Cephalosporium sp. CBS 535.71, Acremonium brachypenium CBS 866.73, Acremonium dichromosporum CBS 683.73, Acremonium obclavatum CBS 311.74, Acremonium pinkertoniae CBS 157.70, Acremonium roseogriseum CBS 134.56, Acremonium incoloratum CBS 146.62 й Acremonium furatum CBS 299.70H. Целюлолітичні ферменти можуть бути також отримані з Chrysosporum, переважно, штам Chrysosporium lucknowense. Додаткові штами, які може бути використані, містять, але без обмеження ними, Trichoderma (частково T. viride, T. reesei й T. koningii), алкалофільні Bacillus (дивися, наприклад, патент США № 3844890 і публікацію заявки EP № 0458162), і Streptomyces (дивися, напр., публікацію заявки EP № 0458162).

[000152] Багато мікроорганізмів, які можуть бути використані для перетворення на цукор матеріалу біомаси й виробництва цукру, також можуть бути використані для бродіння й перетворення цих цукрів у корисні продукти.

ЦУКРИ

[000153] У процесах, описаних у цьому документі, наприклад, після оцукрювання, можуть бути виділені цукри (напр., глюкоза й ксилоза). Наприклад, цукри можуть бути виділені за допомогою осадження, кристалізації, хроматографії (наприклад, хроматографії із псевдорухомим шаром, хроматографії при високих тисках), центрифугування, екстракції, будь-яким іншим способом виділення, відомим у даній галузі, і їх комбінацією.

ГІДРУВАННЯ Й ІНШІ ХІМІЧНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ

[000154] Процеси, описані в цьому документі, можуть містити гідрування. Наприклад, глюкоза й ксилоза можуть бути гідровані до сорбіту й ксиліту, відповідно. Гідрування можуть здійснювати за допомогою використання каталізатора (напр., Pt/gamma-Al₂O₃, Ru/C, нікель Ренея або інші каталізатори, відомі у даному рівні техніки) у комбінації з H₂ під високим тиском (напр., від 10 до 12000 фунт/кв. дюйм). Можуть бути використані інші типи хімічних перетворень продуктів із процесів, описаних тут, наприклад, такі як одержання органічних похідних продуктів цукру (напр., фурфуролу й продуктів, похідних фурфуролу). Хімічні перетворення похідних продуктів цукру описані в заявці на патент США № 61/667,481, поданої 3 липня 2012, розкриття якої включено в цей документ шляхом посилання у всій його повноті.

ФЕРМЕНТАЦІЯ

[000155] Переважно, для перетворення цукрів (напр., фруктози) до бутанола використовують Clostridium spp. Оптимальне значення pH при ферментації становить близько від 4 до 7 pH. Наприклад, оптимальне значення pH у випадку дріжджів становить від близько 4 до 5 pH, при тому, що оптимальне значення pH у випадку Zymomonas становить від близько 5 до 6 pH. Звичайний час ферментації становить близько від 24 до 168 годин (напр., від 24 до 96 годин) при температурах у діапазоні від 20°C до 40°C (напр., від 26°C до 40°C), проте, термофільні мікроорганізми віддають перевагу більш високим температурам.

[000156] У деяких варіантах здійснення цього винаходу, напр., якщо використовують анаеробні організми, щонайменше, частину ферментування проводять при відсутності кисню, напр., в атмосфері інертного газу, такого як N₂, Ar, He, CO₂, або їх сумішей. Крім того, суміш може мати постійну продувку інертного газу, що проходить через резервуар протягом однієї частини або протягом всієї ферментації. У деяких випадках, анаеробні умови можуть бути досягнуті або підтримуються за допомогою двоокису вуглецю в процесі ферментації й не потрібно ніякого додаткового інертного газу.

[000157] У деяких варіантах здійснення цього винаходу вся або частина процесу ферментації може бути перервана перед тим, як цукри з низькою молекулярною масою повністю перетворюються в продукт (напр., етанол). Проміжні продукти ферментації містять цукор і вуглеводи у високих концентраціях. Цукри й вуглеводи можуть бути виділені за рахунок будь-яких засобів, відомих у поточному рівні техніки. Ці проміжні продукти ферментації можуть бути використані в готуванні їжі для споживання людиною або твариною. Додатково або альтернативно, проміжні продукти ферментації можуть бути подрібнені до часток невеликого

розміру в лабораторних вальцях з нержавіючої сталі, для того, щоб одержати борошноподібні речовини.

[000158] Протягом ферментації можуть використати струминне перемішування, а в деяких випадках оцукрювання й ферментацію здійснюють в одній ємності.

5 [000159] Живильні речовини для мікроорганізмів можуть бути додані протягом оцукрювання й/або ферментації, наприклад, комплекси живильних речовин на основі продуктів харчування, описані в публікації заявки на патент США 2012/0052536, поданої 15 липня, 2011, повне розкриття якої включено в цей документ шляхом посилання.

10 [000160] "Ферментація" містить способи й продукти, що описані в заявці на патент США № 61/579559, поданої 22 грудня 2012, і заявці на патент США № 61/579576, поданої 22 грудня 2012, зміст яких включено шляхом посилання в цей документ у всій своїй повноті.

15 [000161] Можуть бути використані мобільні ферментери, як описано в міжнародній заявці № РСТ/US2007/074028 (поданої 20 липня 2007, опублікованої англійською мовою як WO 2008/011598 і призначеної для США), зміст якої включено в цей документ у всій своїй повноті. Аналогічним чином, устаткування для оцукрювання може бути мобільним. Крім того, оцукрювання й/або ферментація може бути виконана частково або повністю під час транспортування.

ІНШІ ЗАСОБИ ДЛЯ ФЕРМЕНТАЦІЇ

20 [000162] Хоч *Clostridium* і є кращим, можуть бути використані інші мікроорганізми. Наприклад, для ферментації або перетворення цукру(ів) до іншого спирту(ів) можуть бути використані дріжджі й бактерія *Zymomonas*. Інші мікроорганізми обговорюються нижче. Це можуть бути природні мікроорганізми й/або створені мікроорганізми. Наприклад, мікроорганізм може бути бактерією (яка містить, але без обмеження ними, напр., целюлолітичні бактерії), гриб (який містить, але без обмеження ними, напр., дріжджі), рослина, найпростіші, напр., протозоа або грибоподібні найпростіші (які містять, але без обмеження ними, напр., міксоміцети), або водорості. Якщо ці організми сумісні, можуть бути використані суміші організмів.

25 [000163] Придатні для бродіння мікроорганізми мають здатність перетворювати вуглеводи, такі як глюкоза, фруктоза, ксилоза, арабіноза, манноза, галактоза, олігосахариди або полісахариди на продукти ферментації. Ферганські мікроорганізми містять штами роду *Saccharomyces* spp (які містять, але без обмеження ними, *S. cerevisiae* (пекарські дріжджі), *S. distaticus*, *S. uvarum*), під *Kluuyveromyces*, (які містять, але без обмеження ними, *K. marxianus*, *K. fragilis*), під *Candida* (які містять, але без обмеження ними, *C. pseudotropicalis*, і *C. brassicae*), *Pichia stipitis* (родич *Candida shehatae*), під *Clavispora* (які містять, але без обмеження ними, *C. lusitaniae* й *C. opuntiae*), під *Pachysolen* (які містять, але без обмеження ними, *P. tannophilus*), під *Bretanomyces* (які містять, але без обмеження ними, напр., *B. clausenii* (Philippidis, G.P., 1996, *Cellulose byconversion technology*, у *Handbook on Bioethanol: Production and Utilization*, Wyman, C.E., ed., Taylor & Francis, Washington, DC, 179-212)). Інші придатні мікроорганізми містять, наприклад, *Zymomonas mobilis*, *Clostridium* spp. (які містять, але без обмеження ними, *C. thermocellum* (Philippidis, 1996, *supra*), *C. saccharobutylaceticum*, *C. saccharobutylicum*, *C. Puniceum*, *C. beijerinckii*, і *C. acetobutylicum*), *Moniliella pollinis*, *Moniliella megachihensis*, *Lactobacillus* spp. *Yarrowia lipolytica*, *Aureobasidium* sp., *Trichosporonoides* sp., *Trigonopsis variabilis*, *Trichosporon* sp., *Moniliellaacetobutans* sp., *Typhula variabilis*, *Candida magnoliae*, *Ustilaginomycetes* sp., *Pseudozyma tsukubaensis*, дріжджі видів роду *Zygosaccharomyces*, *Debaryomyces*, *Hansenula* й *Pichia*, і гриби дематіоїди роду *Torula*.

45 [000164] Наприклад, *Clostridium* spp. можуть бути використані для одержання етанолу, бутанолу, масляної кислоти, оцтової кислоти й ацетону. *Lactobacillus* spp. можуть бути використані для одержання молочної кислоти.

50 [000165] Багато таких мікробних штамів є загальнодоступними, або комерційно або через депозитарії, такі як ATCC (American Type Culture Collection, Манассас, штат Вірджинія, США), NRRL (Agricultural Research Service Culture Collection, Пеорія, штат Іллінойс, США) або DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen Gmb, Брауншвейг, Німеччина), як приклад.

55 [000166] Комерційно доступні дріжджі, містять, наприклад, Red Star®/Lesaffre Ethanol Red (доступний від Red Star/Lesaffre, США), FALI® (доступний від Fleischmann's Yeast, відділення Burns Philip Food Inc., США), SUPERSTART® (доступний від Alltech, запарз Lalemand), GERT STRAND® (доступний від Gert Strand AB, Швеція) і FERMOL® (доступний від DSM Specialties).

60 [000167] Багато мікроорганізмів, які можуть бути використані для перетворення матеріалу біомаси на цукор і виробництва цукру, також можуть бути використані для бродіння й перетворення цих цукрів на корисні продукти.

ДИСТИЛЯЦІЯ

[000168] Після ферментації, отримані рідини можуть бути дистильовані з використанням, наприклад, "бражної колонії", щоб відокремити етанол й інші спирти від основної кількості води й залишкових твердих речовин. Пара, що виходить із бражної колонії може бути, напр., на 35 % за масою етанолом і може бути подана у ректифікаційну колону. Суміш майже азеотропних (92,5%) етанолу й води з ректифікаційної колонії може бути очищена до чистого (99,5%) етанолу з використанням у паровій фазі молекулярних сит. Осади із бражної колонії можуть бути відправлені на перший щабель триступінчастого випарника. Ректифікаційна колона зі зворотним холодильником може забезпечити тепло для цього першого щабля. Після першого щабля, тверді речовини можуть бути розділені з використанням центрифуги й висушені в роторному випарнику. Частина (25%) потоку, що витікає із центрифуги може бути перероблена для ферментації, а інша частина спрямована на другу й третю щаблі випарника. Більша частина конденсату з випарника може бути повернута в процес як досить чистий конденсат з відділенням маленької порції, щоб очистити потік, що впливає, для запобігання нагромадження низькокиплячих сполук.

[000169] Всі числові діапазони, кількості, значення й процентні величини, які відрізняються від прикладів, наведених у цьому документі, або якщо прямо зазначене інше, такі як використані для позначення кількості матеріалів, елементного складу, часу й температур реакції, співвідношення кількостей, а також інші, у наступній частині опису й прикладеній формулі винаходу можуть бути прочитані таким чином, як якби їм передувало слово "близько", навіть якщо термін "близько" явним чином зазначений поруч із значенням, кількістю або діапазоном. Відповідно, якщо не зазначене інше, числові параметри, викладені в наступному описі й прикладеній формулі винаходу, є приблизними й можуть варіюватися залежно від бажаних властивостей, які будуть отримані за допомогою цього винаходу. У крайньому випадку, і не як спроба обмежити застосування доктрини еквівалентів стосовно обсягу формули винаходу, кожен числовий параметр, варто розуміти принаймні у світлі кількості наведених значущих цифр і із застосуванням звичайних способів округлення.

[000170] Незважаючи на те, що числові діапазони й параметри, що представляють широкий обсяг винаходу, є наближеними, числові значення, викладені в конкретних прикладах, наведені як можна точніше. Будь-яке чисельне значення, проте, власне кажучи містить помилку, обов'язково отриману зі стандартного відхилення, що виявляє в лежачому у його основі відповідних тестових вимірах. Крім того, коли у цьому описі наведені чисельні діапазони, ці діапазони включають зазначені кінцеві крапки діапазону (тобто, можуть бути використані кінцеві крапки). Коли тут використовують відсотки за масою, чисельні значення представлені в перерахуванні на загальну масу.

[000171] Крім того, варто розуміти, що будь-який числовий діапазон, наведений у цьому документі, допускає включення всіх піддіапазонів, що входять у нього. Наприклад, діапазон «від 1 до 10» призначений для включення всіх піддіапазонів між (і що включає) зазначеним мінімальним значенням 1 і наведеним максимальним значенням 10, тобто такий, що має мінімальне значення рівне, або більше, ніж 1 і максимальне значення, рівне, або менше, ніж 10. Терміни "один" або "цей", що застосовуються в цьому документі, призначені для включення "принаймні одного" або "одного або більше", якщо не зазначено інше.

ПРИКЛАДИ

[000172] Приклад 1. Одержання бутанолу на глюкозі, ксиліті й фруктозі

[000173] Середовище на основі P2 використовують для наступних випробувань, як описано в патенті США 6358717. Середовище складається з наступних окремо приготовлених розчинів (у грамах на 100 мл дистильованої води, якщо не зазначене інше): цукор (див. нижче типи й кількість), 790 мл дистильованої води (розчин I), 0,5 г K_2HPO_4 , 0,5 г KH_2PO_4 , 2,2 г CH_3COONH_4 (розчин II), 2,0 г $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1 г $MnSO_4 \cdot H_2O$, 0,1 г $NaCl$, 0,1 г $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (розчин III), і 100 мг п-амінобензойної кислоти, 100 мг тіаміну, 1 мг біотину (розчин IV). Розчини I й II стерилізують за допомогою фільтрації й потім перемішують для того, щоб утворився цукровий буферний розчин. Розчини III й IV стерилізують за допомогою фільтрації. Частини (10 й 1 мл) розчинів III й IV, відповідно, додають в асептичних умовах до цукрового буферного розчину. Кінцевий pH середовища P2 становить 6,6.

[000174] Кількості цукрів, що використали, склали: для середовища GXP2, 43 г глюкози й 24 г ксилози; для середовища FP2, 43 г фруктози; для середовища FGP2, 43 г фруктози й 43 г глюкози.

[000175] Розчини продувають аргонном протягом 45 хв, а потім поміщають в анаеробну камеру. Розчини (10 мл) вимірюють в 21, 20 мл раніше автоклавованому пеніциліновому флаконі. Флакони опечатують герметизуючою гумовою прокладкою й потім дістають із

анаеробного ящика. Флакони інокують 1 об. % *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* (ATCC 27021) з водного розчину в гліцерині підготовленого відповідно до рекомендованого протоколу ATCC із описаної гранули ATCC. Флакони вирощували при 30°C протягом 48 або 96 годин. Вільний простір над продуктом аналізують для одержання бутанола з використанням GC. Результати (у г/л) наведені в таблиці нижче.

Таблиця 2

Результати одержання бутанола на трьох різних джерелах вуглецю

ID зразка	Момент часу	Середовище	н-бутанол
1	48 годин	GXP2	3,2
2	48 годин	GXP2	2,9
3	48 годин	GXP2	2,0
4	48 годин	FP2	11,5
5	48 годин	FP2	11,0
6	48 годин	FP2	11,7
7	48 годин	FGP2	3,1
8	48 годин	FGP2	3,0
9	48 годин	FGP2	3,5
10	96 годин	GXP2	2,6
11	96 годин	GXP2	2,9
12	96 годин	GXP2	3,0
Control-13	96 годин	GXP2	0,0
14	96 годин	FP2	11,1
15	96 годин	FP2	12,0
16	96 годин	FP2	11,4
Control-17	96 годин	FP2	0,0
18	96 годин	FGP2	2,3
19	96 годин	FGP2	2,7
20	96 годин	FGP2	3,4
Control-21	96 годин	FGP2	0,0

[000177] Приклад 2. Одержання бутанола на фруктозі в порівнянні із глюкозою й ксилозою.

- 10 [000178] Десять мл середовища P2, які містять або суміш глюкози/ксилози або окремо фруктозу (32 г/л) інкубують при 30°C з одним з *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* ATCC штамом, 27021 або 27022. Так само як й у Прикладі 1, результати, представлені в таблиці нижче, демонструють, що більше бутанола одержують, коли *Clostridium* вирощують на фруктозі, ніж на глюкозі або ксилозі.

Таблиця 3

Ріст *Clostridium* у флаконі на фруктозі або глюкозі/ксилозі як джерело вуглецю

Штам	Субстрат	Одержання бутанола (г/л)	Момент часу (годин)
ATCC 27021	Фруктоза	11,7	48
ATCC 27021	Глюкоза/Ксилоза	2,3	48
ATCC 27022	Фруктоза	11,6	96
ATCC 27022	Глюкоза/Ксилоза	4,0	96

- 15 [000180] Всі патенти, публікації, або інші матеріали, що розкриваються, у цілому або частково, як говорять, включені в цей документ шляхом посилання тільки в тому ступені, що включений матеріал не суперечить існуючим визначенням, твердженням або іншому матеріалу, розкриття якого викладене у цьому описі. Таким чином, і в необхідному обсязі, розкриття, як
- 20 викладено в цьому документі заміняє будь-які конфліктуючі матеріали, включені в цей документ шляхом посилання. Будь-який матеріал, або його частина, який, як говорять, включений у даний документ шляхом посилання, але який суперечить існуючим визначенням, твердженням або іншому розкритому матеріалу, викладеному в цьому документі будуть включені тільки в тому

ступені, що не виникає ніякого конфлікту між цим включеним матеріалом й існуючим розкриттям матеріалу.

- [000181] Хоча цей винахід був конкретно показаний й описаний з посиланнями на кращі варіанти його здійснення, фахівцям у даній галузі буде зрозуміло, що різні зміни у формі й деталях можуть бути зроблені без відступу від обсягу винаходу, що охоплений прикладеною формулою винаходу.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб одержання спирту, який включає одержання фруктози за допомогою оцукрювання целюлозної і лігноцелюлозної біомаси та приведення у взаємодію вказаної оцукреної біомаси із ксилосоізомеразою, вибраною для перетворення глюкози у фруктозу, і перетворення фруктози у вказаний спирт із застосуванням мікроорганізму, при цьому умови метаболізму підтримують таким чином, що вказаний мікроорганізм виробляє захисний субстрат, який захищає вказаний мікроорганізм від токсичної дії вказаного спирту, де захисний субстрат являє собою ліпід, і де мікроорганізм являє собою штам *Clostridium spp.*
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вказану целюлозну або лігноцелюлозну біомасу обробляють для зменшення її стійкості до оцукрювання.
3. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що вказаний спосіб обробки вибраний з групи, що складається з: бомбардування електронами, обробки ультразвуком, окислювання, піролізу, парового вибуху, хімічної обробки, механічної обробки, подрібнення заморожуванням та їх комбінації.
4. Спосіб за п. 3, який **відрізняється** тим, що вказаний спосіб обробки являє собою бомбардування електронами.
5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вказана целюлозна або лігноцелюлозна біомаса вибрана з групи, що складається з: паперу, продуктів з паперу, паперових відходів, паперової маси, пігментованого паперу, крейдованого паперу, паперу з покриттям, паперу з наповнювачем, паперу ілюстрованих видань, видавничої продукції, паперу для друкувальних пристроїв, паперу з полімерним покриттям, стосу карток, щільного паперу, картону, бавовни, дерева, деревностружкової плити, відходів лісового господарства, тирси, дерева осики, тріски, трави, проса, міскантуса, спартини, очеретянки звичайної, залишків зерна, рисової лушпайки, лушпайки вівса, соломи, лушпайки ячменю, сільськогосподарських відходів, силосу, соломи канолі, пшеничної соломи, ячмінної соломи, соломи вівса, рисової соломи, джуту, конопель, льону, бамбука, сизалю, абака, качанів кукурудзи, кукурудзяної соломи, соломи сої, кукурудзяних волокон, люцерни, сіна, кокосових волокон, залишків переробки цукру, багаси, бурякового гніта, макухи агави, водоростей, морських водоростей, гною, комунально-побутових стічних вод, крохмалевмісної рослини, гречки, бананів, ячменю, маніоку, кудзу, оки, саго, сорго, звичайної домашньої картоплі, солодкої картоплі, таро, батату, бобових, бобів, сочевиці, гороху, промислових відходів і сумішей будь-яких з них.
6. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вказаний мікроорганізм являє собою *S. saccharoperbutylacetonicum*.
7. Спосіб за п. 6, який **відрізняється** тим, що вказаний мікроорганізм являє собою штам *S. saccharoperbutylacetonicum* ATCC 27021.
8. Спосіб за п. 6, який **відрізняється** тим, що вказаний мікроорганізм являє собою штам *S. saccharoperbutylacetonicum* ATCC 27022.
9. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вказаний спирт містить ізобутанол або н-бутанол.
10. Спосіб за будь-яким із пп. 1-5, який **відрізняється** тим, що вказаний захисний субстрат додатково містить тригліцерид.
11. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що вказані ліпіди отримані шляхом гліколізу.
12. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що вказаний тригліцерид отриманий шляхом етерифікації гліцерил 3-фосфату через D-гліцеральдегідний шлях.
13. Спосіб за будь-яким із пп. 1-5, який додатково включає забезпечення вказаного мікроорганізму комплексом поживних речовин на основі продуктів харчування.

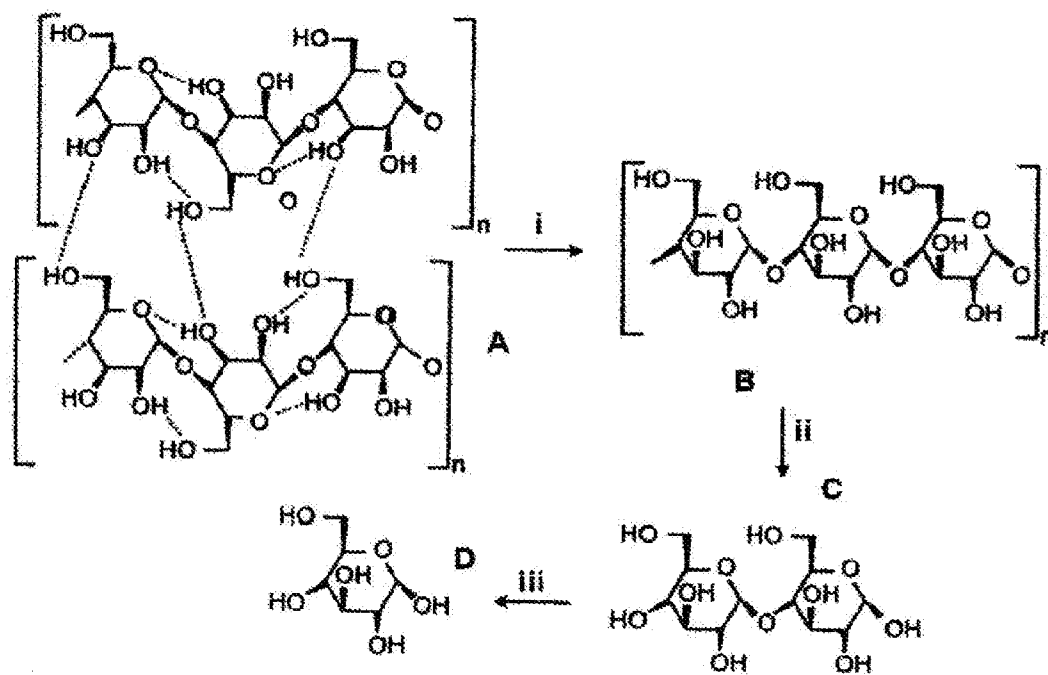


Fig.1

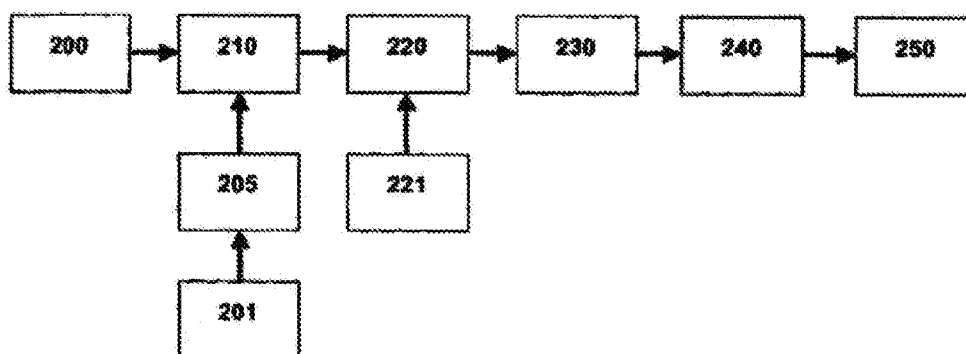
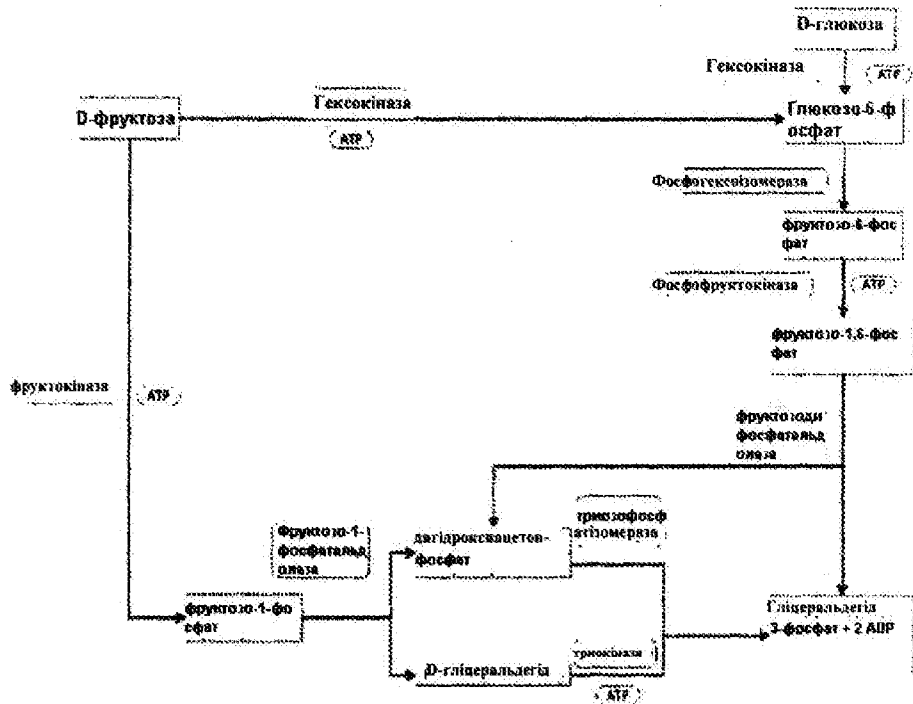
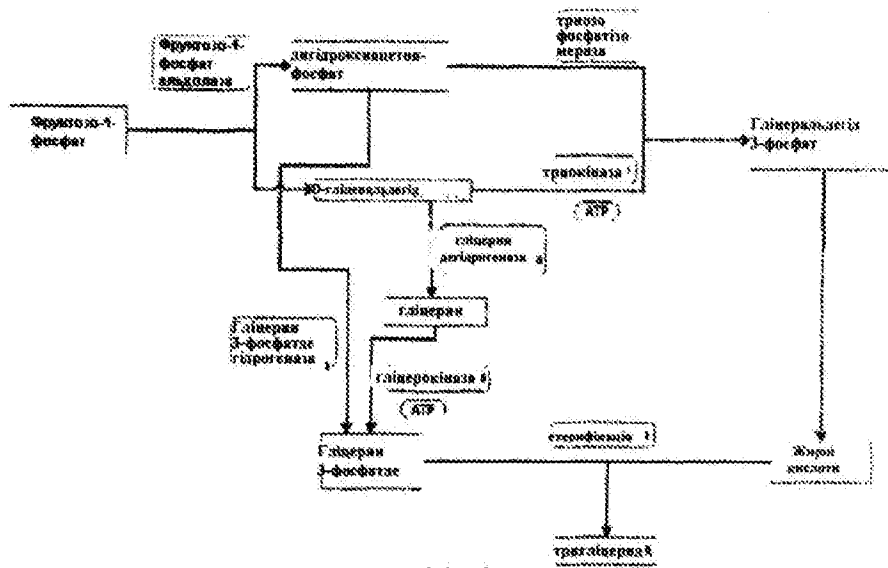


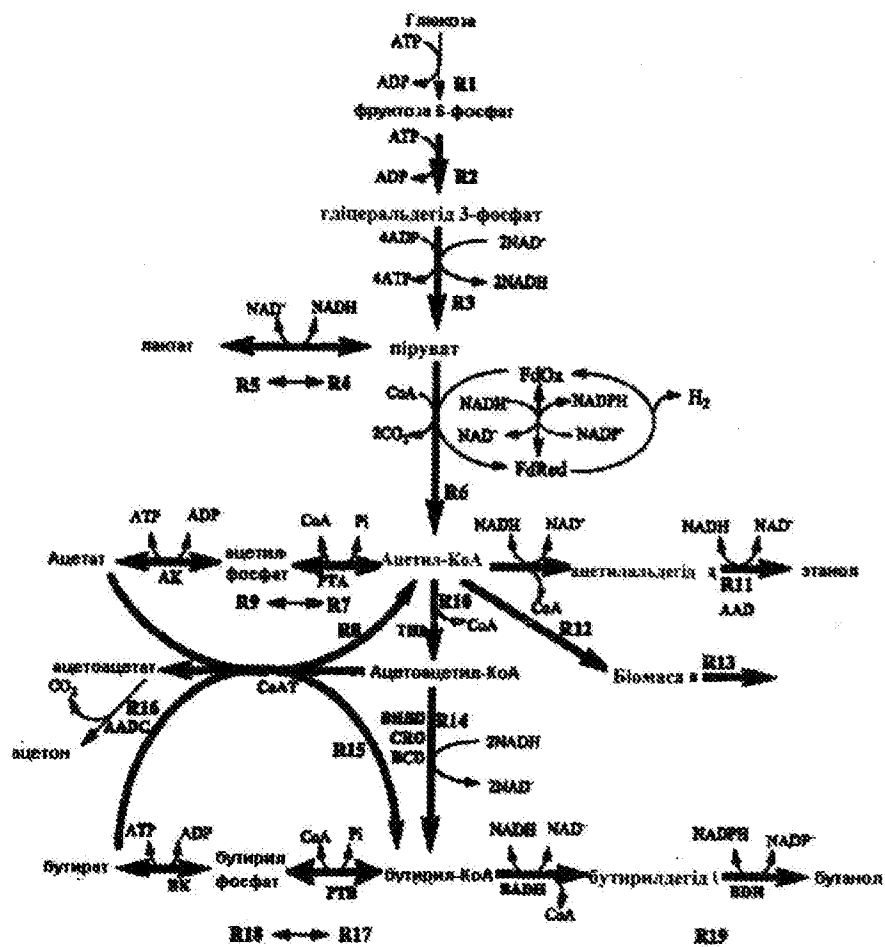
Fig.2



Фіг.3



Фіг.4



Фиг.5

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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