



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 693 33 708 T2 2005.12.22**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 654 096 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **693 33 708.7**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US93/07542**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **93 919 966.7**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 94/003646**

(86) PCT-Anmeldetag: **06.08.1993**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **17.02.1994**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **24.05.1995**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **24.11.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **22.12.2005**

(51) Int Cl.⁷: **C13K 1/02**
A23K 1/12

(30) Unionspriorität:

926739 **06.08.1992** **US**

96972 **27.07.1993** **US**

(73) Patentinhaber:

**The Texas A & M University System, College
Station, Tex., US**

(74) Vertreter:

**Patentanwälte Lippert, Stachow & Partner, 51427
Bergisch Gladbach**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU,
MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**HOLTZAPPLE, T., Mark, College Station, US;
DAVISON, R., Richard, Bryan, US; NAGWANI,
Murlidhar, Houston, US**

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN ZU VORBEHANDLUNG VON BIOMASSE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung**Hintergrund der Erfindung****1. Gebiet der Erfindung**

[0001] Die Erfindung bezieht sich auf Verfahren zur Vorbehandlung einer Lignin enthaltenden Biomasse, um die Biomasse einer Verdauung zugänglich zu machen. Die Vorbehandlung umfasst die Zugabe von Calciumhydroxid und Wasser zu der Biomasse, um eine Mischung zu bilden, und Aufrechterhaltung der Mischung bei einer vergleichsweise hohen Temperatur. Alternativ kann ein Oxidationsmittel, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Sauerstoff und Sauerstoff enthaltenden Gasen unter Druck zu der Mischung zugefügt werden. Die Erfindung bezieht sich ebenfalls auf die verdauten Produkte der vorbehandelten Biomasse, welche nützliche Ausgangsmaterialien, Brennstoffe und Chemikalien wie beispielsweise Zucker, Ketone, Fettsäuren und Alkohole sind, und auf ein Verfahren zur Wiedergewinnung der Calciums aus der vorbehandelten Biomasse.

2. Beschreibung des technischen Hintergrundes

[0002] Biomasse kann in drei Hauptkategorien klassifiziert werden: Zucker, Stärke und Zellulose enthaltende Pflanzen. Zucker enthaltende Pflanzen (beispielsweise Süßsorghum, Zuckerrohr) und Stärke enthaltende Pflanzen (beispielsweise Getreide, Reis, Weizen, Süßkartoffeln) werden primär als Nahrungsquellen verwendet. Zellulose enthaltende Pflanzen und Abfallprodukte (beispielsweise Gräser, Holz, Bagasse, Stroh) sind die am reichlichsten vorhandenen Formen von Biomasse. Obwohl sie nicht einfach in nützliche Produkte überführt werden, kann ein technisch gut ausgearbeiteter Prozess zur Überführung derselben in Ausgangsmaterialien potentiell ökonomisch sein, da die Kosten der Ausgangsmaterialien wesentlich geringer als jene von Zucker- und Stärke enthaltender Biomasse sind.

[0003] Auf Zellulose enthaltende Materialien wird im allgemeinen als Lignozellulosen Bezug genommen, da diese Zellulose (40% bis 60%), Hemizellulose (20% bis 40%) und Lignin (10% bis 25%) enthalten. Nicht-holzartige Biomasse enthält im allgemeinen weniger als ungefähr 15 bis 20% Lignin. Zellulose, ein Glykosepolymer, kann unter Verwendung von Säure, Enzymen oder Mikroben zu Glykose hydrolysiert werden. Glykose kann als ein Ausgangsmaterial für Brennstoffalkohole und einzellige Proteinherstellung dienen. Eine mikrobiologische Hydrolyse erzeugt zelluläre Biomasse (einzelliges Protein) und metabolische Abfallprodukte wie beispielsweise organische Säuren. Die Säurehydrolyse erzeugt, obwohl einfach durchführbar, viele unerwünschte Abbauprodukte. Die enzymatische Hydrolyse ist die sauberste und der am meisten bevorzugte Ansatz. Die Erzeugung von Enzymen, hauptsächlich Cellulase und Cellobiase, kann jedoch ein kostenträchtiger Schritt sein. Neben der Alkoholerzeugung kann Lignozellulose als ein preisgünstiges Viehfutter verwendet werden. Da rohe Lignozellulose nicht einfach durch Vieh verdaut werden kann, muss sie aufbereitet werden, um ihre Verdaubarkeit zu verbessern, bevor sie an Wiederkäuer verfüttert werden kann. Des weiteren kann eine anaerobe Fermentation unter Verwendung von Mikroorganismen von Wiederkäuern flüchtige Fettsäuren mit niedrigem Molekulargewicht erzeugen.

[0004] Zellulose ist das weltweit am meisten verbreitete biologische Material. Ungefähr 40% bis 45% des Trockengewichtes von Holzarten ist Zellulose. Der Grad der Polymerisation liegt in dem Bereich von 500 bis 20.000. Zellulosemoleküle sind vollständig linear, unverzweigt und haben eine starke Neigung, inter- und intra-molekulare Zellstoffbrückenbindungen zu bilden. Bündel von Zellulosemolekülen sind daher miteinander aggregiert, um Mikrofibrillen zu bilden, in welchen hochgeordnete (kristalline) Bereiche mit weniger geordneten (amorphen) Bereichen abwechseln. Mikrofibrillen erzeugen Fibrillen und endgültige Zellulosefasern. Als eine Konsequenz von dieser Faserstruktur und der starken Wasserstoffbrückenbindungen hat Zellulose eine sehr hohe Zugfestigkeit und ist in den meisten Lösungsmitteln unlöslich.

[0005] Hemizellulose ist das am zweitmeisten weltweit verbreitete Kohlehydrat und macht ungefähr 20 bis 30% des Trockengewichtes von Holz aus. Hemizellulosen werden durch Biosynthesewege gebildet, die von denen von Zellulose verschieden sind, obwohl sie ursprünglich als Intermediate der Zellulosebiosynthese aufgefasst wurden. Hemizellulosen sind Heteropolysaccharide und werden durch eine Vielzahl von Monomeren gebildet. Die am meisten verbreiteten Monomere sind Glykose, Galactose und Mannose (Dihexosen) und Xylose und Arabinose (Dipentosen). Die meisten Hemizellulosen haben einen Polymerisationsgrad von nur 200. Hemizellulosen können in drei Familien klassifiziert werden, Xylane, Mannane und Glactane, die als Rückratpolymere bezeichnet werden.

[0006] Lignin ist das am weltweit meisten verbreitete Biomaterial, das kein Kohlenhydrat ist. Es ist ein dreidi-

mensionales Makromolekül von enorm hohem Molekulargewicht. Da dessen Einheiten stark vernetzt sind, ist es schwierig, ein individuelles Molekül zu definieren. Lignin erzeugt eine Festigkeit durch Verbindung von Zellulosefibrillen aneinander. Da es seiner Natur nach hydrophob ist, verhindert es Wasserverluste aus dem vaskularen System und schützt Pflanzen vor Insekten und mikrobiellen Attacken, da es gegenüber enzymatischer Zersetzung hochresistent ist.

[0007] Phenylpropan, eine aromatische Verbindung, ist die Basisstruktureinheit von Lignin. Die Monomeren sind nicht nur miteinander verzweigt, sondern auch mit der Hemizellulose verbunden. Eine große Beschränkung der Verfügbarkeit von Zellulose und Hemizellulose ist die Anwesenheit von Lignin. Es wurde gezeigt, dass erniedrigte Ligningehalte eine erhöhte Verdaubarkeit bewirken. Lignin kann durch physikalische, chemische oder enzymatische Behandlungen entfernt werden. Es muss dazu in kleine Einheiten abgebaut werden, welche aus der Zellulosematrix herausgelöst werden können. Es bestehen verschiedene gut untersuchte Methoden zur Erzeugung von Pulpe, welche Lignin heraustrennen und entfernen und die Zellulose im wesentlichen intakt lassen. Herkömmliche Pulpeverfahren, wie beispielsweise Kraft- und Sulfimpulpeherzeugung sind als eine Vorbehandlung durch Biokonversion zu kostspielig. Des weiteren ist eine wirtschaftliche Verwendung des entfernten Lignins schwierig, da dessen chemische Struktur und Größenverteilung stark heterogen sind. Ein weiterer Hauptnachteil der enzymatischen Zellulosehydrolyse ist die hochgeordnete molekulare Packung in dessen kristallinen Bereichen. Zellulitische Enzyme bauen die eher zugänglichen amorphen Bereiche von Zellulose schnell ab, aber sind nicht in der Lage, das weniger zugängliche kristalline Material anzugreifen. Daher erhöhen sich die enzymatischen Hydrolyseraten mit sich verringerndem Kristallinitätsindex, wie er durch Röntgenbeugungsmethoden gemessen wird.

[0008] Der Feuchtigkeitsgehalt der Zellulosefasern beeinflusst den enzymatischen Abbau. Die zelluloseartigen Materialien werden wirksam von einem Angriff durch Enzyme oder Mikroben geschützt, vorausgesetzt, dass der Feuchtigkeitsgehalt unterhalb eines kritischen Niveaus gehalten wird, welches für das Material und den jeweiligen Organismus charakteristisch ist. Im Allgemeinen liegt dieser kritische Gehalt geringfügig über dem Fasersättigungspunkt, ungefähr 40% des Trockengewichtes. Feuchtigkeit spielt drei Hauptrollen: (1) sie quellt die Fasern durch Hydratisierung der Zellulosemoleküle, wodurch die Feinstruktur geöffnet und der Zugang für Enzyme erhöht wird, (2) es stellt ein Diffusionsmedium für Enzyme und für teilweise abgebaute Produkte dar und (3) es wird der Zellulose während der hydrolytischen Spaltung der glycosidischen Bindungen der jeweiligen Moleküle addiert.

[0009] Die Oberfläche von Lignozellulose ist ein weiterer wichtiger Faktor, welcher die Empfindlichkeit gegenüber enzymatischem Abbau bestimmt. Sie ist wichtig, da der Kontakt zwischen Enzymmolekülen und der Zelluloseoberfläche eine Vorbedingung für das Fortschreiten der Hydrolyse ist. Einige andere Faktoren, welche ebenfalls die Empfindlichkeit beeinflussen, schließen die Größe und Diffusionsfähigkeit von Enzymmolekülen im Verhältnis zu der Größe und den Oberflächeneigenschaften der Kapillaren, Dimensionen der Einheitszellen von Zellulosemolekülen und Konformation und sterischer Steifigkeit von Hydro-Glykoseeinheiten ein.

[0010] Um die Empfindlichkeit gegenüber enzymatischer Hydrolyse zu erhöhen, ist eine Vorbehandlung der Lignozellulose ein wesentliches Erfordernis. Der heterogene enzymatische Abbau von lignozelluloseartigen Stoffen wird primär durch ihre strukturellen Eigenschaften bestimmt, da (1) Zellulose eine hochresistente kristalline Struktur aufweist, (2) das die zelluloseumgebende Lignin eine physikalische Barriere bildet und (3) die für einen enzymatischen Angriff verfügbaren Stellen begrenzt sind. Eine ideale Vorbehandlung würde daher den Ligningehalt reduzieren, was mit einer Verringerung der Kristallinität und einer Erhöhung der Oberfläche verbunden wäre. Vorbehandlungsmethoden können in Abhängigkeit von der Wirkungsweise in physikalische, chemische, physikochemische und biologische klassifiziert werden. Die für dieses Gebiet verfügbare Literatur ist sehr umfangreich. Verschiedene Vorbehandlungsverfahren, welche zur Erhöhung der Verdaubarkeit von Zellulose verwendet wurden, sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

[0011] Biologische Vorbehandlungen setzen Pilze für eine mikrobiologische Befreiung von Lignin ein, um die Zellulose besser zugänglich zu machen. Wesentliche biologische Ligninabbauer sind die höheren Pilze, Ascomycetes und Basidiomycetes. Der Abbau durch Pilze ist ein langsamer Prozess und die meisten Pilze greifen nicht nur Lignin sondern auch Zellulose an, wodurch eine Mischung von Ligninfragmenten und Zuckern resultiert. Verbesserungen können eine Entwicklung von spezifischeren und wirksameren Mikroben erfordern.

Physikalische Vorbehandlungen

[0012] Physikalische Vorbehandlungen können in zwei allgemeine Kategorien klassifiziert werden: mechanisch (beinhaltend alle Arten von Mahlen) und nicht mechanisch (beinhaltend Hochdruckdampfbehandlung,

hochenergiereiche Bestrahlung und Pyrolyse). Während der mechanischen Vorbehandlungen zerteilen physikalische Kräfte (beispielsweise Scherung, kompressive Kräfte) Lignozellulose in feinere Teilchen. Diese physikalischen Kräfte verringern die Kristallinität, Teilchengröße und den Polymerisationsgrad und erhöhen die Dichte. Diese strukturellen Veränderungen resultieren in einem gegenüber Säuren und enzymatische Hydrolyse sehr empfindlichem Material. Aufgrund der enorm hohen Betriebskosten, die mit den hochenergiereichen Anforderungen verbunden sind, niedrigen Ausbeuten und Langzeitbedarf sind diese mechanischen Vorbehandlungen nicht praktikabel. Nicht mechanische physikalische Vorbehandlungsverfahren erhöhen ebenfalls die Verdaubarkeit, aber haben ähnliche Nachteile und sind daher nicht für reale Prozesse wirtschaftlich.

Physikochemische Vorbehandlungen

[0013] Dampfexplosion und Ammoniak-Faser-Explosion (AFEX) sind die hauptsächlichen physikochemischen Vorbehandlungen. Eine Dampfexplosion erwärmt befeuchtete Lignozellulose auf hohe Temperaturen (ungefähr 25°C) und gibt den Druck sofort frei. Aufgrund der schnellen Dekompression, welche das in den Fasern eingeschlossene Wasser sehr schnell austreibt, tritt eine physikalische Verringerung der Größe auf. Die hohen Temperaturen entfernen Essigsäure aus Hemizellulose, so dass dieses Verfahren in einer gewissen Autohydrolyse der Biomasse resultiert. Diese Veränderungen resultieren in einer besseren Verdaubarkeit, aber die drastischen Bedingungen erzeugen ebenfalls Zersetzungsprodukte, welche die Hydrolyse und Fermentation inhibieren. Diese Produkte werden durch Waschen mit Wasser entfernt, was in einem Verlust an wasserlöslicher Hemizellulose resultiert. Daher beschränkt trotz der verbesserten Verdaubarkeit die Zersetzung der Biomasse und die Naturierung von Protein die Vermehrung der Dampfexplosion.

[0014] Das AFEX-Vorbehandlungsverfahren laugt Lignozellulose in flüssigem Ammoniak bei hohem Druck aus und entspannt anschließend den Druck explosionsartig. Die Vorbehandlungsbedingungen (30°C bis 100°C) sind weniger drastisch als bei der Dampfexplosion. Eine Erhöhung des zugänglichen Oberflächenbereichs, gekoppelt mit einer reduzierten Zellulosekristallinität (hervorgerufen durch Kontaktierung mit Ammoniak) resultiert in einer erhöhten enzymatischen Verdaubarkeit. Die Verwendung von Ammoniak (als eine gefährliche Chemikalie) und die hohe Druckfreisetzung macht das Verfahren sehr komplex und energieintensiv.

Chemische Vorbehandlungen

[0015] Viele chemische Vorbehandlungen wurden zur Ligninentfernung und Zerstörung der kristallinen Ligninstruktur eingesetzt. Von diesen Chemikalien, Säuren, Gasen, Oxidationsmitteln, Zelluloselösungsmitteln und Lösemittel-extraktionsmitteln sind sämtliche zur Erhöhung der Verdaubarkeit in der Lage, aber nicht so populär wie Alkalien. Wirtschaftliche Überlegungen, einfachere Verfahren und einige höhere Zersetzungen bevorzugen Alkalien als chemische Vorbehandlungsmittel. Die meisten dieser Verfahren sind solche zur Papierpulpeerzeugung und beinhalten die vollständige oder nahezu vollständige Zerstörung von Lignin und eine korrespondierende Zerstörung von Zellulose. Obwohl sie für die Pulpeerzeugung nicht von Bedeutung sind, sind diese Pulpeverfahren relativ drastisch und als Vorbehandlungen für Biomasse nicht nützlich. Des weiteren sind die in der Papierindustrie eingesetzten herkömmlichen Pulpeerzeugungsprozesse als Vorbehandlungsverfahren für Lignozellulose zu teuer.

[0016] EP-A-0045500 und BR-A-8207036 beziehen sich auf Vorbehandlungsprozesse für die Entfernung von Lignin aus einer Biomasse.

[0017] Winugroho et al. (1984) Agric. Wastes 9, 87–99, bezieht sich auf ein Auslauge-und-pressverfahren zur Vorbehandlung von Biomasse mit NaOH und Ca(OH)₂ in der Abwesenheit eines Oxidationsmittels.

[0018] Devendra (1979) MARDI Res. Bull. 7, 75–88, bezieht sich auf die Verwendung von NaOH und Ca(OH)₂ zur Vorbehandlung von Biomasse in der Abwesenheit eines Oxidationsmittels.

[0019] ABC CHEMIE, Verlag Harri Deutsch, Frankfurt/Main und Zürich (1965), Seite 633, ist eine Zusammenfassung der basischen Eigenschaften von Calciumcarbonat.

[0020] Das US-Patent Nr. 4, 644,060 von Chou bezieht sich auf die Verwendung von superkritischem Ammoniak zur Erhöhung der Verdaubarkeit von Lignozellulose.

[0021] Die US-Patente Nr. 4,353,713 und 4,448,588 von Cheng beziehen sich auf die Vergasung von Biomasse oder Kohle, welches ein endothermer Prozess ist. Diese Patente beziehen sich auch auf ein Verfahren zur Zufügung der geforderten thermischen Energie durch gebrannten Kalk mit Kohlendioxid, welches eine exo-

therme Reaktion ist.

[0022] Das US-Patent Nr. 4,391,671 von Azarniouch bezieht sich auf ein Verfahren zur Kalzinierung von Calciumcarbonat in einem Drehrohrofen. Diese Fundstelle bezieht sich auf die Papier-/Pulpeindustrie, in welcher Calciumcarbonat mit Abfallbiomasse kontaminiert ist. Die Abfallbiomasse wird verbrannt, um die notwendige Reaktionswärme bereitzustellen.

[0023] Das US-Patent Nr. 4,356,196 von Hulquist bezieht sich auf die Behandlung von Biomasse mit Ammoniak.

[0024] Das US-Patent Nr. 4,227,964 von Kerr bezieht sich auf die Verwendung von Ammoniak zur Förderung des Verdrehens von Pulpefasern zur Erhöhung der Papierfestigkeit, nicht jedoch zum Herunterbrechen der Fasern.

[0025] Das US-Patent Nr. 4,087,317 von Roberts bezieht sich auf die Verwendung von Kalk und mechanische Einwirkung zur Überführung von Pulpe in ein hydratisiertes Gel. Es findet sich kein Hinweis auf eine Kalkrückgewinnung oder enzymatische Hydrolyse des hydratisierten Gels.

[0026] Das US-Patent Nr. 4,064,276 von Conradsen bezieht sich auf einen Prozess, in welchem Biomasse mit einer Plane bedeckt wird und anschließend mit Ammoniak ammonisiert wird, welchem gestattet wird, in die Atmosphäre zu entweichen.

[0027] Das US-Patent Nr. 3,939,286 von Jelks bezieht sich auf die Oxidierung von Biomasse mit Hochdruck-sauerstoff unter erhöhter Temperatur und Druck in Anwesenheit eines sauren Katalysators und eines Metallkatalysators, Eisen(II)chlorid, um Ligninbindungen zu brechen und die Verdaubarkeit zu erhöhen. Die Katalysatoren werden als für den Prozess notwendig beschrieben und Calciumhydroxid wird als Neutralisierungsmittel verwendet, um den resultierenden pH-Wert der hydrolysierten Biomasse einzustellen.

[0028] Das US-Patent Nr. 3,878,304 von Moore bezieht sich auf die Produktion eines langsam freisetzenen Nichtprotein-Stickstoffs in Viehfutter. Ein Amid, Harnstoff, wird mit Abfallkohlehydraten in der Anwesenheit eines sauren Katalysators umgesetzt. Das resultierende Material wird pelletiert und als Tierfutter verwendet. Da der Stickstoff langsam in dem Vieh freigesetzt wird, ist er gegenüber dem Tier nicht toxisch.

[0029] Das US-Patent Nr. 3,944,463 von Samuelson et al. bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung von Zellulosepulpe von hoher Helligkeit. Die Zellulose wird mit einer alkalischen Verbindung bei einer Temperatur von zwischen ungefähr 60°C bis ungefähr 200°C vorbehandelt, um so zwischen 1 und 30% des Trockengewichtes des Materials in dem Vorbehandlungsalkohol zu lösen. Der Vorbehandlungsalkohol enthält vorzugsweise Natriumcarbonat, Natriumbicarbonat oder Mischungen desselben oder möglicherweise Natriumhydroxid.

[0030] Das US-Patent Nr. 3,639,206 von Spruill bezieht sich auf die Vorbehandlung von aus einem Pulpeprozess erhaltenem Abwasser mit Calciumoxid oder Hydroxid, um den Faser- und Farbstoffgehalt des Abwassers zu reduzieren.

[0031] Das US-Patent Nr. 4,048,341 von Lagerstrom et al. bezieht sich auf ein Verfahren zur Erhöhung des Futterwertes von lignozelluloseartigem Material auf Kontaktierung des Materials mit einer alkalischen Flüssigkeit, insbesondere Natriumhydroxid. Die alkalische Flüssigkeit, im Überschuss eingesetzt, wird ermöglicht, aus dem Material auszulaufen, bevor irgend eine wesentliche Alkalisierungswirkung erreicht worden ist. Nachdem die in dem Material absorbierte Flüssigkeit ihre Wirkung getan hat, wird eine Säurelösung zu dem Material hinzugefügt, um das überschüssige Alkali zu neutralisieren. Die Literaturstelle offenbart nicht die Wechselbeziehung von Temperatur und Zeit der Alkalibehandlung, noch offenbart sie die optimalen Mengen von Natriumhydroxid und Wasser.

[0032] Das US-Patent Nr. 4,182,780 von Lagerstrom et al. bezieht sich auf ein Verfahren zur Erhöhung des Futterwertes von lignozelluloseartigen Materialien durch Alkalibehandlungen und nachfolgende Neutralisation der Materialien mit einer Säure in einem geschlossenen System unter Zirkulation der Behandlungsmittel.

[0033] Das US-Patent Nr. 4,515,816 von Anthony bezieht sich auf einen Prozess, in welchem Lignozellulose mit verdünnter Säure in einer Menge von ungefähr 1,5 bis 2,5% des Trockengewichtes von Lignozellulose behandelt wird. Die Mischung wird anschließend bei Umgebungsbedingungen für 5 bis 21 Tage in einer luftfreien

Umgebung aufbewahrt.

[0034] Das US-Patent Nr. 4,842,877 von Tyson bezieht sich auf ein Verfahren zur Entlignifizierung von nicht-holziger Biomasse (< 20% Lignin). In diesem Verfahren wird nicht-holzartige Biomasse mit einem Chelatierungsmittel behandelt, um eine nicht notwendige Oxidation zu verhindern, und bei einem hohen pH-Wert und hohen Temperaturen (150°F bis 315°F) in Anwesenheit von Wasserstoffperoxid und druckbeaufschlagtem Sauerstoff gehalten. Wasserstoffperoxid bewirkt eine Reaktion mit den Zellwänden, um der Hemizellulose und dem Lignin zu gestatten, sich zu lösen und durch einen nachfolgenden Hydrolyseprozess entfernt werden zu können. Sauerstoff wird zugefügt, um die Aktivierung von Wasserstoffperoxid zu initiieren und zu beschleunigen.

[0035] Die Bedingungen und Ergebnisse, die in der Literatur über Ammoniak (gasförmig, wasserfreie Flüssigkeit oder NH_4OH) und Natriumhydroxid als Vorbehandlungsmittel berichtet wurden, sind jeweils in Tabelle 2 und Tabelle 3 aufgelistet. Die bezüglich der Verwendung dieser beiden Chemikalien zur Erhöhung der Verdaubarkeit von Lignozellulose von Viehfuttern sowie auch für die Hydrolyse zu Glucose verfügbare Literatur ist umfangreich. Die Literatur bezüglich der Vorbehandlungsverfahren mit Calciumhydroxid ist im Vergleich zu der mit Natriumhydroxid und Ammoniak wesentlich geringer. Die Bedingungen und Ergebnisse der in der Literatur unter Verwendung von Calciumhydroxid durchgeführten Studien sind in Tabelle 4 gezeigt.

[0036] Die in den Tabellen und weiter unten angegebenen Fundstellen sind:

Anderson, D. C.; Ralston, A. T. J. Anim. Sci. 1973; 37, 148.
 Baker, A. J.; Millett, M. A.; Satter, L. D. ACS Symposium Series 1975; 10, 75.
 Brown, W. F.; Phillips, J. D.; Jones, D. B. J. Anim. Sci. 1987; 64, 1205.
 Dawish, A.; Galal, A. G. In Proc. Conf. Anim. Feeds Trop. Subtrop. Origin 1975.
 Felix, A.; Hill, R. A.; Diarra, B. Anim. Prod. 1990; 51, 47.
 Feist, W. C.; Baker, A. J.; Tarkow, H. J. Anim. Sci. 1970; 30, 832.
 Gharib, F. H.; Meiske, J. C.; Goodrich, R. D.; El Serafy, A. M. J. Anim. Sci. 1975; 40(4), 734.
 Hulquist, J. H. U.S. Patent No. 4,356,296; 1982 Kellens, R. D.; Herrera-Saldana, R.; Church, D. C. J. Anim. Sci. 1983; 56(4), 938.
 Mandels, M.; Hontz, J. R.; Kystrom, J. Biotech. Bioeng. 1974; 16, 471.
 Millet, M. A. et al., J. Anim. Sci. 1970; 31(4), 781. Moore, W. E.; Effland, M. J.; Medeiros, J. E. J. Agr. Food Chem. 1972; 20(6), 1173.
 Morris, P. J.; Movat, D. N. Can. J. Anim. Sci. 1980; 60, 327.
 Playne, M. J. Biotech. Bioeng., 1984; 26, 426.
 Rounds, W.; Klopfenstein, T. J. Anim. Sci. 1974; 39, 251 (abst.).
 Turner, N. D.; Schelling, G. T.; Greene, L. W.; Byers, P. M. J. Prod. Agric. 1990; 3(1), 83.
 Villareal, E. R. Ph. D. Thesis Texas A&M Univ. College Station, TX 1988.
 Waiss, A. C. et al., J. Anim. Sci. 1972; 35(1), 109 Waller, J. C.; Klopfenstein, T. J. Anim. Sci. 1975, 41 424 (Zusammenfassung).

[0037] Playne (1984) untersuchte die Wirkungen einer Alkalibehandlung und Dampfexplosion auf die Verdaubarkeit von Bagasse. Die Verdaubarkeit von unbehandelter Bagasse betrug 190 g organisches Material (OM)/kg Bagasse Trockenmaterial. Sie wurde erhöht auf: 733 g organisches Material unter Verwendung von NaOH (und ebenso unter Verwendung von $\text{Ca}(\text{OH})_2$ mit Na_2CO_3); auf 430 g OM unter Verwendung von NH_3 ; und auf 724 g OM unter Verwendung von $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Wenn $\text{Ca}(\text{OH})_2$ alleine verwendet wurde, wurde eine hohe Beladung (ungefähr 180 bis 300 g $\text{Ca}(\text{OH})_2$ kg Bagasse) verwendet. Gharib et al. (1975) verwendeten Calciumoxid für eine in vitro-Untersuchung von chemisch behandelter Pappelrinde. Sie berichteten, dass Calciumoxid die in vitro-Verdaubarkeit von 38% auf 52% bei einer 150-tägigen Behandlung erhöhte, obwohl eine geringe Verbesserung bei einer eintägigen Behandlung gefunden wurde. Rounds und Klopfenstein (1974) studierten die Wirkungen von NaOH, KOH, NH_4OH und $\text{Ca}(\text{OH})_2$ auf eine in vivo-Verdaubarkeit von Maiskolben durch Verfütterung an Lämmer und auf eine in vitro-Verdaubarkeit unter Verwendung von künstlichem Rumen. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ alleine war nicht in der Lage, die in vitro-Verdaubarkeit zu erhöhen, obwohl mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + NaOH behandelte Rationen in einer höheren täglichen Zunahme und Fütterungseffizienz bei den Lämmern resultierte. Waller und Riopfenstein (1975) verwendeten verschiedene Kombinationen von NaOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ und NH_4OH für die Futterbehandlung für Lämmer und Färsen und berichteten, dass die höchste tägliche Zunahme und geringste Nahrung/Zunahme bei 3% NaOH + 1% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ Rationen erhalten wurde. Darwish und Glal (1975) verwendeten mit 1,5% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ behandelte Maiskolben in einer Milchproduktionsration und fanden keine signifikante Veränderung in der Milchabgabe. Felix et al. (1990) untersuchten die Wirkungen von Einwirkungen und Behandlung von Sojabohnenstroh mit NaOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ und NH_4OH auf die Verdaubarkeit bei Wiederkäuern. Die Ergebnisse zeigten keine signifikante Verbesserung aufgrund der Alkalibehandlung von trockenem und un-

behandeltem Stroh an, obwohl eine Alkalibehandlung die Verdaubarkeit von behandeltem Stroh verbesserte.

[0038] Obwohl die Verwendung von Calciumhydroxid als ein Vorbehandlungsmittel demonstriert worden ist, wurde wesentlich weniger Arbeit bei der Anwendung dieser Chemikalie im Vergleich mit anderen Alkalien gemacht. Die meisten der vorherigen Arbeiten wurden durch die Wissenschaftler durchgeführt, die versuchten, ein sehr einfaches Verfahren zur Erhöhung der Lignozelluloseverdaubarkeit bei Tierfutter zu entwickeln. Sämtliche dieser Studien wurden bei Raumtemperatur oder unterhalb derselben durchgeführt, bei niedrigeren Wasserbeladungen, für sehr lange Perioden und ohne Vermischung. Diese Verfahren erforderten sehr lange Behandlungszeiten, welche sehr kostspielig sind, da die Reaktoren sehr groß sein müssen. Es besteht daher ein Bedarf an einer Verbesserung der gegenwärtig existierenden Verfahren zur Vorbehandlung von Lignozellulose enthaltendem Material, um dessen Verfügbarkeit bei einer enzymatischen Verdauung zu ergeben.

Zusammenfassung der Erfindung

[0039] Die Erfindung bezieht sich auf ein wirtschaftliches Verfahren zur Vorbehandlung einer Lignozellulose enthaltenden Biomasse, um die Biomasse gegenüber einer Verdauung verfügbar zu machen, wie in Anspruch 1 definiert. Die Vorbehandlung umfasst die Zugabe von Calciumhydroxid und Wasser zu der Biomasse und Aussetzen der Biomasse gegenüber vergleichsweise hohen Temperaturen für einen Zeitraum. Die vorbehandelte Biomasse wird verdaut, um ein nützliches Produkt zu ergeben.

[0040] Eine weitere Ausführungsform der Erfindung bezieht sich auf ein wirtschaftliches Vorbehandlungsverfahren, welches die Zugabe von Calciumhydroxid und Wasser zu der Biomasse umfasst, um eine Mischung zu bilden, Zufügung eines Oxidationsmittels, ausgesucht aus der Gruppe bestehend aus Sauerstoff und sauerstoffhaltigen Gasen zu der Mischung unter Druck und Aussetzung der Biomasse gegenüber vergleichsweise hohen Temperaturen für einen Zeitraum. Die vorbehandelte Biomasse wird verdaut, um ein nützliches Produkt zu ergeben.

[0041] Ein weiteres Ausführungsbeispiel der Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Wiedergewinnung von Calcium aus einer Biomasse. Nach der Vorbehandlung wird die Biomasse mit einem Carbonatisierungsmittel carbonatisiert, um Calciumcarbonat zu bilden. Calciumcarbonat wird von der vorbehandelten Mischung oder nach der Verdauung wiedergewonnen und kann in Calciumhydroxid zurücküberführt werden.

Kurzbeschreibung der Zeichnungen

[0042] [Fig. 1](#) ist ein schematisches Diagramm des Reaktorsystems 3.

[0043] [Fig. 2](#) ist eine Glukosekalibrierungskurve für das Filterpapierassay.

[0044] [Fig. 3](#) ist eine Enzymkalibrierungskurve für das Filterpapierassay.

[0045] [Fig. 4](#) ist eine Kalibrierungskurve für das DNS-Assay.

[0046] [Fig. 5](#) ist ein Flussdiagramm für eine kontinuierliche Wiedergewinnung von Calciumhydroxid.

[0047] [Fig. 6](#) ist ein technisches Diagramm einer Ausführungsform zur Wiederverwendung eines Hydroclons zur Abtrennung von Kalkfeststoffen aus der Kalklösung.

[0048] [Fig. 7](#) ist ein schematisches Diagramm einer anderen Ausführungsform unter Verwendung eines Hydroclons zur Abtrennung von Kalkfeststoffen aus einer Kalklösung.

[0049] [Fig. 8](#) ist ein schematisches Diagramm, welches verschiedene mögliche Permutationen der Vorbehandlung von Biomasse mit Kalk zeigt.

[0050] [Fig. 9](#) zeigt den Kalkbehandlungsprozess für die Futterproduktion von Wiederkäuern.

[0051] [Fig. 10](#) ist ein Diagramm des Sauerstoffdruckes gegen die Ausbeute, um die Wirkung von Sauerstoff auf die Hydrolyse von Zeitungen zu zeigen.

[0052] [Fig. 11](#) ist ein Diagramm der Vorbehandlungszeit gegen die Ausbeute, um die Wirkung der Behandlungszeit auf die Hydrolyse von Zeitungen zu zeigen.

Beschreibung der Erfindung

[0053] Die vorliegende Erfindung umfasst wirtschaftliche Verfahren zur Vorbehandlung einer Biomasse. Die Vorbehandlung umfasst die Zugabe von Calciumhydroxid und Wasser zu einer Biomasse, um die Biomasse gegenüber einem Abbau verfügbar zu machen. Calciumhydroxid ist nicht teuer und wesentlich preisgünstiger als andere Alkalien. Es ist sicher zu handhaben und, im Gegensatz zu dem Natriumrückstand, ist der Calciumrückstand nur ein geringes oder kein Problem für Tierfutter. In einem künstlichen Rumen erzeugt Calciumhydroxid Calciumacetat, welches ebenfalls sicher und nicht giftig ist. Calciumhydroxid ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) als Lignozellulosevorbehandlungsmittel ist daher sehr wirtschaftlich. Des weiteren besteht kein signifikanter Unterschied in der Verdaubarkeit zwischen mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ vorbehandeltem Material und mit NH_3 oder NaOH vorbehandeltem Material bei Tieren.

[0054] Die Betriebsbedingungen der Vorbehandlungsmethoden der Erfindung sind eine wesentliche Verbesserung gegenüber der bestehenden Literatur. Frühere Forscher beschränkten deren Betriebsbedingungen auf Umgebungstemperatur und niedriger, um einen sehr einfachen Prozess ohne Heizeinrichtungen zu schaffen. Diese einfacheren Prozesse erfordern extrem lange Behandlungszeiten, typischerweise in dem Bereich von 8 bis 150 Tagen. Eine Erhöhung der Behandlungstemperatur könnte die Behandlungszeit verringern, aber es besteht das Risiko des Abbaus der Lignozellulose. Es wurden Hochtemperaturbehandlungsbedingungen identifiziert, welche die Lignozellulose nicht abbauen und in Behandlungszeiten resultieren, welche um Größenordnungen kürzer sind. Der wirtschaftliche Einfluss ist signifikant, da der Reaktor um Größenordnungen kleiner sein kann.

[0055] Des weiteren benutzten frühere Calciumhydroxid(Kalk)vorbehandlungsverfahren sehr niedrige Wasserbeladungen. Da diese Prozesse bei Raumtemperatur betrieben wurden, war ein guter Wärmeübergang kein Thema. Sie konnten mit sehr wenig Wasser betrieben werden, da die thermischen Isolierungseigenschaften von Luft nicht störend waren. Wenn diese jedoch bei einer höheren Temperatur betrieben wurden, ergab der Prozess Vorteile, da ungefähr zehnmal mehr Wasser umfasst war, da dessen hohe Wärmekapazität und Wärmeübertragungskoeffizient eine gleichförmige Temperatur sicherstellt. Hohe Wasserbeladungen stellen ferner ein Medium bereit, in welchem der Kalk gleichmäßiger dispergiert werden kann, aber sind gegenüber herkömmlichen Prozeduren nicht erreichbar. Konsequenterweise verwendeten die meisten der früheren Forschungen bei der Kalkbehandlung vergleichsweise niedrige Kalkbeladungen, wobei wir in der Lage waren, zu zeigen, dass höhere Beladungen realistischerweise betrachtet werden können, da der Kalkzurückgewinnungsprozess ebenfalls in der Erfindung mit inkorporiert ist.

[0056] In einer Ausführungsform bezieht sich die Erfindung auf ein Verfahren zur Vorbehandlung einer Lignozellulose enthaltenden Biomasse, um die Biomasse einer Verdauung zugänglich zu machen, und umfasst die Bereitstellung einer Lignozellulose enthaltenden Biomasse, Zugabe von Calciumhydroxid und Wasser zu der Biomasse zur Ausbildung einer Mischung und Aufrechterhaltung der Mischung bei einer erhöhten Temperatur und für einen Zeitraum, der ausreichend ist, die Biomasse der Mischung der Verdauung verfügbar zu machen. Arten von nützlicher Biomasse umfassen Gras, Holz, Bagasse, Stroh, Papier, Pflanzenmaterial und Kombinationen derselben. Lignozellulose enthaltende Biomasse, auf welche sich das erfindungsgemäße Verfahren richtet, ist vorzugsweise Biomasse, welche mehr als 15% Lignin enthält und mehr bevorzugt Biomasse, welche mehr als 20% Lignin enthält.

[0057] Vorzugsweise wird die Biomasse einer Zersplitterungsmaschine, einem Mahlwerk, einer Hackmaschine, einem Schredder oder dergleichen zugeführt, um diese in der Größe zu reduzieren. Die resultierenden Biomassechips oder -teilchen haben vorzugsweise eine Größe von ungefähr $\frac{1}{2}$ inch oder kleiner. Die Biomassepartikel werden anschließend mit Calciumhydroxid und Wasser vereinigt, um eine alkalische Biomassenmischung zu bilden. Die Mischung enthält zwischen ungefähr 6 bis ungefähr 19 g Wasser je Gramm trockener Biomasse und vorzugsweise ungefähr 16 g Wasser je Gramm trockener Biomasse. Die Mischung kann ebenfalls zwischen ungefähr 2 bis ungefähr 50 g Calciumhydroxid je 100 g trockener Biomasse und vorzugsweise ungefähr 30 g Calciumhydroxid je 100 g trockener Biomasse enthalten. In Abhängigkeit von der Art der Biomasse kann die bevorzugte Menge größer oder kleiner sein. Calciumhydroxid kann vor oder nach dem Wasser oder als eine wässrige Lösung oder Dispersion zugefügt werden.

[0058] Die wässrige Calciumhydroxid-/Biomasse-Mischung wird in Reaktionskammern, welche vorzugsweise aus rostfreiem Stahl bestehen, zwischen ungefähr 40°C bis ungefähr 150°C, vorzugsweise zwischen ungefähr 100°C bis ungefähr 140°C und am meisten bevorzugt bei ungefähr 120°C beibehalten. In Abhängigkeit von der Art der Biomasse kann der Temperaturbereich zwischen ungefähr 70°C bis ungefähr 110°C, zwischen ungefähr 110°C bis ungefähr 150°C oder zwischen ungefähr 50°C und ungefähr 65°C liegen. Die Temperatur wird

zwischen ungefähr 1 bis ungefähr 36, vorzugsweise zwischen ungefähr 1 bis ungefähr 20 Stunden, mehr bevorzugt ungefähr 3 Stunden, aufrechterhalten. Wiederum kann in Abhängigkeit von der Art der Biomasse der Zeitraum länger oder kürzer sein, wie beispielsweise zwischen ungefähr 15 bis ungefähr 25 Stunden.

[0059] Eine weitere Ausführungsform der Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Umwandlung einer Lingozellulose enthaltenden Biomasse in ein nützliches Produkt und umfasst die Bereitstellung einer Lingozellulose enthaltenden Biomasse, Zufügung von Calciumhydroxid und Wasser zu der Biomasse zur Bildung einer Mischung, Oxigenierung der Mischung mit druckbeaufschlagtem Sauerstoff, Aufrechterhaltung der Mischung bei einer erhöhten Temperatur und für einen Zeitraum, der ausreichend ist, die Biomasse der Mischung einer Verdauung verfügbar zu machen, und Verdauung der Biomasse der Mischung, um die Biomasse in das nützliche Produkt zu überführen. Sauerstoff ist vergleichsweise preisgünstig und als druckbeaufschlagtes Sauerstoffgas, druckbeaufschlagte Luft und andere druckbeaufschlagte Sauerstoff enthaltende Gase schnell verfügbar. Sauerstoff ist des weiteren nicht toxisch und nicht gegenüber der Umgebung umweltschädlich. Calciumhydroxid wird zu einer Biomasse wie oben beschrieben zugefügt, um eine Mischung zu bilden. Zu der Mischung wird ein Oxidationsmittel unter Druck ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Sauerstoff und sauerstoffreichen Gasen, zugefügt. Vorzugsweise hat das zugefügte Sauerstoff enthaltende Gas einen Druck zwischen ungefähr 138 bis 3.448 kN/m² (ungefähr 20 bis ungefähr 500 psig, Pfund je Quadrat-Inch-Anzeige), vorzugsweise größer als ungefähr 345 kN/m² (ungefähr 50 psig) und mehr bevorzugt größer als ungefähr 690 kN/m² (ungefähr 100 psig).

[0060] Nach jeder der oben beschriebenen Ausführungsformen wird die vorbehandelte Biomasse durch Hydrolyse wie beispielsweise Säurehydrolyse, enzymatische Einwirkung, Fermentation oder eine Kombination von Verdauungsmethoden verdaut. Die verdaute Biomasse weist Material auf, welches nützliche Produkte wie beispielsweise Alkohole, Säuren wie beispielsweise organische Säuren, Zucker, Ketone, Stärken, Fettsäuren und Kombinationen derselben sind. Diese Produkte können in Ausgangsmaterialien überführt werden, wie beispielsweise chemische Ausgangsmaterialien, Brennstoffe und andere nützliche Produkte. Aufgrund der relativ milden Vorbehandlungsbedingungen werden die nützlichen Produkte in höheren Mengen erhalten und sind von höherer Qualität als Produkte, die nach anderen Vorbehandlungsverfahren erhalten werden. Die maximale Materialmenge wird mit so geringem Abfallanfall wie möglich in das Zwischenprodukt überführt. Des weiteren werden keine Giftstoffe oder gefährlichen Chemikalien in die Biomasse eingeführt, so dass kein Bedarf der Entfernung oder sogar Untersuchung derselben in dem Endprodukt besteht.

[0061] Eine weitere Ausführungsform der Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Wiedergewinnung von Calcium aus einem Biomassevorbehandlungsprozess, umfassend die Vorbehandlung der Biomasse mit Calciumhydroxid und Wasser zur Bildung einer Mischung, wahlweise Zugabe eines Oxidationsmittels, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Sauerstoff und sauerstoffhaltigen Gasen zu der Mischung unter Druck und Aufrechterhaltung der Mischung bei einer erhöhten Temperatur und für einen Zeitraum, der ausreichend ist, die Biomasse der Mischung einer Verdauung verfügbar zu machen, Carbonatisieren der Mischung oder des flüssigen Anteils derselben, um Calciumcarbonat auszufällen und Rückgewinnung des ausgefällten Calciumcarbonats. Der pH-Wert der carbonatisierten Mischung liegt zwischen ungefähr 8,5 und 10,5 und vorzugsweise zwischen ungefähr 9,0 und ungefähr 10. Das Calciumcarbonat wird in der Mischung niedergeschlagen und kann durch Filtration, Hydroclon-Trennung, Sedimentation, Zentrifugieren oder Kombination von diesen Methoden wiedergewonnen werden. Das Calciumcarbonat kann ebenso erwärmt und in Kohlendioxid und Calciumoxid überführt werden und das Calcium als Calciumoxid wiedergewonnen werden.

[0062] Alternativ wird die vorbehandelte Mischung mit einem Carbonatisierungsmittel behandelt, welches vorzugsweise Kohlendioxidgas ist, welches gasförmig in die Mischung eingeleitet wird, um Calciumcarbonat zu bilden. Die vorbehandelte und carbonatisierte Biomasse wird verdaut und das nützliche Produkt von der verbleibenden Mischung oder dem Mischungsrückstand abgetrennt. Der Lignin und Calciumcarbonat enthaltende Mischungsrückstand wird beispielsweise in einem Drehrohrofen, vorzugsweise einem Kalkdrehrohrofen, erwärmt, um das Calciumcarbonat in Calciumhydroxid zu überführen. Die dem Drehrohrofen zugeführte Wärme kann aus der Verbrennung des Lignins erhalten werden, was ein insgesamt sehr wirtschaftliches Verfahren ergibt.

[0063] Die nachfolgenden Beispiele sollen Ausführungsformen der Erfindung veranschaulichen, aber sollten nicht als den Schutzzumfang der Erfindung beschränkend angesehen werden.

Beispiele

Beispiel 1 Probenvorbereitung

[0064] Rohbagasse wurde von der Tierwissenschaftlichen Abteilung der Texas A&M Universität gesammelt. Sie wurde für drei Jahre offen gelagert, lediglich durch eine Plastikfolie abgedeckt. Sie wurde anschließend zunächst wenig mit Wasser gewaschen und anschließend in einem Ofen (bei 80°C) für ungefähr 8 Stunden getrocknet. Des weiteren war, da Bagasse mit der Lagerzeit zerfällt, die in der vorliegenden Studie verwendete Bagasse mehr aufsässig als die von Holtzaple et al., Appl. Biochem. Biotech. 28/29, 59 (1991) verwendete Bagasse. Das Weizenstroh war bereits gereinigt und erforderte keine Waschung. Weichholzzeitungen waren der Bryan/College Station, Texas, Eagle-Zeitung. Sie wurde zunächst in einem Papierschredder geschreddert. Sämtliche Materialien wurden durch eine Wiley-Mühle auf eine Teilchengröße von 1 × 1 mm gemahlen und anschließend durch ein 40 mesh Sieb passiert. Eine Trockengewichtanalyse wurde durch Plazierung einer kleinen Probe in einem Ofen bei 80°C für 24 Stunden und Messung des Gewichtsverlustes aufgrund der Wasserverdampfung durchgeführt.

Beispiel 2 Calciumhydroxidvorbehandlung

[0065] Die Calciumhydroxidvorbehandlung beinhaltet die Umsetzung der Biomasse mit Calciumhydroxid in der Anwesenheit von Wasser bei einer vergleichsweise hohen Temperatur. Die Wirksamkeit des Vorbehandlungsprozesses wurde bei verschiedenen unterschiedlichen Reaktionsbedingungen studiert. Die studierten Prozessvariablen waren die Kalkbeladung (2 bis 30 g $\text{Ca}(\text{OH})_2$ /100 g trockene Biomasse), Wasserbeladung (6 bis 19 g Wasser/g trockene Biomasse), Behandlungstemperatur (50°C bis 145°C) und Behandlungszeit (1 Stunde bis 36 Stunden). Die nachfolgenden drei Arten von Reaktorsystemen wurden eingesetzt.

[0066] Reaktorsystem 1: Für anfängliche Vorbehandlungsexperimente wurden 500 ml Erlenmeyer-Kolben aus Glas als Reaktoren verwendet. Die Kolben wurden mit Gummistopfen abgeschlossen und in einem 100 Umdrehungen/Minute geschüttelten Wasserbad plziert. Dieses Verfahren war auf 65°C beschränkt, die höchste durch das Wasserbad erreichbare Temperatur.

[0067] Reaktorsystem 2: Erlenmeyer-Kolben wurden in einem Ofen mit periodischer manueller Schüttlung plziert. Ein Experiment wurde nach diesem Verfahren bei 65°C durchgeführt. Dieses Verfahren resultierte in geringeren Ausbeuten, was demonstriert, dass eine kontinuierliche Schüttlung für einen wirksamen Massentransfer erforderlich war.

[0068] Reaktorsystem 3: Stahlreaktoren wurden für Experimente in dem Temperaturbereich von 65°C bis 145°C verwendet. Um der korrosiven Natur von Calciumhydroxidlösungen zu widerstehen, waren die Reaktoren aus rostfreiem Stahl 304 konstruiert. Die Reaktoren wurden bei einer Länge von 1,5 „l. D. × 5“ mit zylindrischen Anschlüssen mit Endkappen an beiden Enden versehen. Um eine Vermischung innerhalb der Reaktoren bereitzustellen wurde eine Rotationseinrichtung in der Maschinenwerkstatt der Abteilung Chemische Verfahrenstechnik der Texas A&M Universität hergestellt. Ein schematisches Diagramm dieses Reaktorsystems ist in [Fig. 1](#) gezeigt. Diese Einrichtung hält die Reaktoren (R) innerhalb des Ofens (O) und stellt durch eine kontinuierliche Rotation derselben eine Verwirbelungsmischung des Inhalts bereit. Es ist ein an beiden Enden mit zwei Kugellagern (B) unterstützter Stahlstab (R1) vorgesehen. Die Lager sind an einem Stahlrahmen (SF), welcher innerhalb des Ofens angeordnet werden kann, verschraubt. Sechs Löcher sind durch diesen Stab gebohrt, um die Klammern (C) zu halten, welche den Reaktor halten. Stellschrauben halten während der Drehung die Klammern an ihrer Stelle. Durch die Rückseite des Ofens ist ein Ein-Zoll-Loch gebohrt. Ein schmaler Stab (R2), welcher durch ein Kugellager (an der Ofenwandung verschraubt) unterstützt ist, führt durch dieses Loch hindurch. Eine Antriebsscheibe (P) ist an dem außerhalb des Ofens angeordneten Ende befestigt. Ein Motor (M) mit variabler Geschwindigkeit AC/DC, welcher an der Oberseite des Ofens befestigt ist, treibt den Stab R2 rotatorisch an. Der Stahl rc > d, welcher den Reaktor (R1) hält, hat ein Antriebs-ende (eine kleine Mutter (N)), die mit der Antriebsscheibe (über einen Ansatz (S)) angekoppelt. Diese Kopplungsanordnung gestattet es, den Reaktor auf einfache Weise in dem Ofen anzuordnen und aus diesem zu entfernen.

[0069] Um die Vorbehandlungsexperimente auszuführen, wurden die Reaktoren durch Umwickeln mit wenigstens vier Lagen Teflonband an beiden Enden präpariert. Ein Ende wurde durch Anordnung des Nippels in einen Schraubstock und Festziehen der Endkappe durch einen Rohrschlüssel geschlossen. Die Reaktionsmischung wurde durch Anordnung der gemessenen Mengen an Biomasse (7,5 g Trockengewicht) und $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (entsprechend der Kalkbeladung) innerhalb des Reaktors hergestellt. Das Material wurde innig innerhalb des Reaktors unter Verwendung eines Spatels vermischt. Gemessene Mengen von Wasser wurden anschließend

zu dieser trocken gemischten Probe zugefügt. Die Endkappe wurde auf dem anderen Ende des Nippels angeordnet und festgezogen. Die Reaktoren wurden anschließend in siedendem Wasser für fünf bis 10 Minuten (in Abhängigkeit von der Temperatur der Vorbehandlung) angeordnet, um diese vorzuwärmen. Die Vorwärmung der Reaktoren ist notwendig, um diese schnell auf höhere Temperaturen zu bringen. Sie wurden anschließend auf der Drehvorrichtung eingespannt und fixiert und in dem auf der gewünschten Vorbehandlungstemperatur gehaltenen Ofen angeordnet. Der Motor wurde eingeschaltet und das System wurde für die gewünschte Vorbehandlungszeit sich selbst überlassen. Nach Beendigung der Vorbehandlungszeit wurde der Reaktor aus dem Ofen entfernt und in ein Wasserbad geführt, um die Temperatur schnell auf Umgebungstemperatur abzusinken. Proben wurden anschließend aus dem Reaktor zur Hydrolyse entnommen. Eine vollständige Schritt-für-Schritt-Prozedur ist unten angegeben.

[0070] Wahlweise wird ein Sauerstoff enthaltendes Gas in den Reaktor aus einem mit dem System verbundenen Hochdruckgasbehälter oder Tank eingeführt. Das Gas kann reiner druckbeaufschlagter Sauerstoff, komprimierte Luft (welche sehr ökonomisch ist) oder jegliches andere unter Druck stehende Sauerstoff enthaltende Gas sein. Der Druck des Sauerstoff enthaltenden Gases kann mit einem auf dem Gaszuführungsbehälter oder auf dem Reaktor befestigten Druckmessgerät bestimmt werden.

Beispiel 3 Calciumhydroxid-Vorbehandlung – Reaktorsystem 3

1. Entfernung des alten Teflonbandes und Reinigung der Gewinde an beiden Enden. Umwickeln (im Uhrzeigersinn) von wenigstens vier Lagen an neuem Teflonband.
2. Kennzeichnung und Numerierung sämtlicher der Reaktoren. Zwei oder vier oder sechs Reaktoren können zu jedem Zeitpunkt betrieben werden.
3. Schließen des Reaktors durch Anordnung der Kappe an einem Ende. Halten des Nippels in dem Schraubstock und Festziehen der Kappe unter Verwendung einer Rohrzanze.
4. Wiegen von gemahlenem und gesiebt Material, welches 7,5 g Trockengewicht hat. Einfüllen desselben unter Verwendung eines Trichters in die gekennzeichneten Reaktoren.
5. Einwiegen von Calciumhydroxid entsprechend der gewünschten Kalkbeladung und Einfüllen in die Reaktoren mit der Biomasse.
6. Innige Vermischung von Ca(OH)_2 und Biomasse unter Verwendung eines Spatels. Diese Trockenvermischung ist wesentlich, um eine gleichmäßige Reaktion sicherzustellen.
7. Einfüllen von Wasser entsprechend der gewünschten Wasserbeladung
- 7A. (Wahlweise) Öffnen eines Ventils, welches den Reaktor mit einem Behälter mit unter Druck stehendem Sauerstoffgas verbindet. Schließen des Ventils, wenn ein definierter Gasdruck innerhalb des Reaktors erreicht ist.
8. Schließen der Reaktorenden.
9. Anordnen des Reaktors in siedendem Wasser für ungefähr 5 Minuten für einen 50°C-Lauf, für ungefähr 15 Minuten für einen 135°C-Lauf. Der Warmwasserbereiter braucht ungefähr 30 Minuten zum Aufwärmen, so dass er zuvor per Hand eingeschaltet werden muss.
10. Erwärmen des Ofens auf die gewünschte Vorbehandlungstemperatur. Der Ofen braucht ungefähr eine Stunde, um eine stabile Temperatur zu erreichen. Die Drehvorrichtung ist während der Aufheizung innerhalb des Ofens zu halten, so dass dieser vorgewärmt wird.
11. Einspannen des Reaktors und sicherstellen, dass die Klammern in den Zentren der Reaktoren sind, so dass keine Blockierung während der Drehung auftritt.
12. Anordnung der Klammern in den Schlitzen des drehenden Stabes und Festziehen der Stellschrauben.
13. Anordnung der Einrichtung in dem Ofen und Ankoppeln derselben an den Motor unter Verwendung der Ankopplungseinrichtung.
14. Anstellen des Motors und Aufrechterhaltung der minimal möglichen Rotationsgeschwindigkeit. Sicherstellung, dass der Motor sich nicht festsetzt.
15. Beobachtung der Ofentemperatur.
16. Herausnehmen des Reaktors und Platzierung desselben in einem kalten Wasserbad nach Beendigung der Vorbehandlungszeit. Dem Reaktor wird für ungefähr 10 Minuten gestattet, sich abzukühlen.
17. Durchführung einer enzymatischen Hydrolyse.

Beispiel 4 Filterpapier-Assay

[0071] Das Filterpapier-Assay wird üblicherweise verwendet, um die Zellulosehydrolyse quantitativ zu studieren und die Zelluloseaktivität zu messen. Filterpapier wird verwendet, da es ein schnell verfügbares und reproduzierbares Substrat ist und weder zu empfindlich noch zu widerstandsfähig gegenüber Zelluloseenzymen ist. Das Filterpapier wird mit variierenden Mengen von Zelluloseenzym für eine Stunde bei 50°C und einem

pH-Wert von 4,8 inkubiert. Die Menge von innerhalb einer Stunde freigesetzten reduzierenden Zuckern wird durch das Dinitrosalicylsäure(DNS)-Assay gemessen. (Siehe ebenfalls unten). Die Menge von Enzymen, welche 2 mg des reduzierenden Zuckers (ausgedrückt als Glukose) in einer Stunde erzeugt, ist gleich 0,185 Internationalen Einheiten (1 IU = 1 mmol Glukose/min.).

[0072] Kalibrierung des DNS-Reagenzes unter Verwendung von Glukose (zusammen mit Filterpapier):

1. Verwendung eines 500 mg/dl (5 mg/mL) Glukosestandards, Präparation von 0,5 ml Proben in Paaren von Teströhrchen gemäß Tabelle 5.
2. Zufügung von 1,0 ml von 0,05 M Citratpuffer mit einem pH-Wert von 4,8.
3. Zufügung eines 1 × 6 cm Filterpapierstreifens (Whitman #1, zu einer Rolle aufgerollt) Vortex.
4. Inkubieren bei 50°C für eine Stunde (unter Verwendung der mit Kappen verschlossenen Teströhrchen). Verhinderung jeglichen Schüttelns.
5. Zufügen von 3,0 ml von DNS zu jedem Teströhrchen.
6. Aufkochen der Proben für 15 Minuten in einem Wasserbad.
7. Zufügung von 10 ml Wasser und Vortex-Behandlung.
8. Filtrieren durch einen 0,45 µm Nylonmembran-Filter.
9. Messen der Extinktion (Absorbanz) bei 550 nm und Erzeugung einer Kalibrierungskurve der Extinktion gegenüber der Glukosekonzentration, wie in [Fig. 2](#) gezeigt.

Messung der Enzymaktivität

1. Zufügen von 0, 5, 10, 15, 20 mg Enzym zu 10 mL zu 0,05 M Citratpuffer, pH-Wert 4,8, und Vortex-Behandlung.
2. Pipetieren von 0,5 mL von hergestellten Enzymproben in Paaren von Teströhrchen.
3. Wiederholung der Schritte 2 bis 8, welche während der Kalibrierung der Kurvenerzeugung durchgeführt wurden.
4. Messen der Extinktion (Absorbanz) bei 550 nm.

Messung von Zuckern in dem Enzym

1. Pipetieren von 0,5 mL von 20 mg/mL Enzymprobe in Paare von Teströhrchen A.
2. Pipetieren von 0,5 mL von destilliertem Wasser in Paare von Teströhrchen B.
3. Zufügung von 1 mL von 0,05 M Citratpuffer mit pH-Wert von 4,8 zu den Teströhrchen A und B.
4. Wiederholung der Schritte 5 bis 7, welche während der Erzeugung der Kalibrierungskurve durchgeführt wurden.
5. Messung der Extinktion bei 550 nm.
6. Berechnung des Extinktionskorrekturfaktors (ACF) wie folgt:

$$ACF = \frac{(Abs\ A - Abs\ B)}{(20\ mg\ Enzym/10\ mL) \times 0,5\ mL}$$

Berechnung der spezifischen Enzymaktivität

1. Verwendung der Glukosekalibrierungskurve, Berechnung der Extinktion, der Extinktion für 2 mg Glukosegewicht (siehe [Fig. 2](#)).
2. Anwendung des Extinktionskorrekturfaktors (ACF) auf die Extinktionsdaten der Enzymergebnisse.
 $Abs_{cor} = Abs - ACF \times E$ (wobei E = mg Enzym in 0,5 mL ist)
3. Auftragung von ABS_{cor} gegen E, um [Fig. 3](#) zu erhalten.
4. Ermittlung von E' korrespondierend mit Abs' unter Verwendung von [Fig. 3](#).
5. Berechnung der spezifischen Aktivität

$$\frac{\text{Aktivität (IU/mg)}}{\text{mmole Glukose}} = \frac{2\ mg\ Glukose}{E'\ mg/h} \times \frac{1\ Stunde}{60\ Min.} \times \frac{0,18\ mg}{mg}$$

Beispiel 5 Enzymatische Hydrolyseprozedur

[0073] Das vorbehandelte Material (7,5 g Trockengewicht) wurde aus den Reaktoren in 500 ml Erlenmeyer-Glaskolben überführt. Der eingesetzte pH-Wert und die Temperatur für das Enzymsystem wurden jeweils bei 4,8 bis 50°C gehalten. Der pH-Wert wurde von ungefähr 11,5 auf 4,8 durch Zugabe von Essigsäure erniedrigt. Das Gesamtflüssigkeitsvolumen wurde auf 150 mL durch Zugabe von destilliertem Wasser erhöht, um eine 50 g/L-Aufschwemmung an Biomasse zu erhalten. Die erforderlichen Mengen von Zellulase und Zellobiose wurden zu der Mischung hinzugefügt und die Kolben wurden mit Stopfen versehen und in einem mit 100 Umdrehungen/Min. geschüttelten Luftbad bei 50°C für drei Tage gehalten. Die enzymatische Hydrolyse der Kontrollmaterialien wurde unter Verwendung von 150 mL von 0,05 M Citratpuffer mit pH-Werten von 4,8 durchgeführt.

[0074] Nach drei Tagen wurden 1 mL Flüssigkeitsproben von jedem der Kolben unter Verwendung einer 1000 mL Eppendorf-Pipette entnommen. Die Proben wurden in mit Kappen versehenen Teströhrchen für 30 Minuten zum Sieden erhitzt, um das Enzym zu denaturieren und dadurch eine weitere Hydrolyse zu vermeiden. Die aufgekochten Proben wurden durch 0,45 µm Nylonmembranfilter filtriert. Die reduzierende Zuckerkonzentration wurde unter Verwendung des DNS-Assays (Miller, G. L., Anal. Chem. 1959, 31, 462) mit Glukose als Kalibrierungsstandard gemessen. Die Zuckerausbeuten werden daher als Äquivalent Glukose g/trockene Biomasse wiedergegeben. Sowohl Zellulase als auch Zellobiose enthalten Zucker. Um diese Zucker zu messen, wurden Enzyme zu einer 50 mL Wasser in der gleichen Konzentration wie vorher verwendet, aber ohne jegliche zugefügte Biomasse. 1 mL Proben wurden genommen, um die Zuckerkonzentration zu bestimmen. Dieser gemessene Zucker in dem Enzym trägt zu einer Korrektur von 45 mg eq. Glukose/g Trockenbiomasse bei, welcher von der dreitägigen reduzierenden Zuckerausbeute aus der behandelten Biomasse abgezogen wurde. Die Hydrolyseproben wurden zwischen 13 bis 33 mal verdünnt, um die Konzentration innerhalb des Assay-Bereichs (0,1 bis 1,0 mg/mL) zu bringen.

Eine detaillierte Hydrolyseprozedur wird nachfolgend angegeben

1. Öffnen eines Endes des Reaktors und Entleeren des Inhaltes (soweit wie möglich) in die gekennzeichneten 500 mL Erlenmeyer-Kolben.
2. Vollständige Überführung der Biomasse unter Verwendung von Wasser, um die Reaktoren zu waschen. Entleeren dieses Wassers und der Biomasse Mischung in die Kolben. Zugabe von ausreichend Wasser, so dass das gesamte Flüssigkeitsvolumen (während der Waschung zugefügtes Wasser + während der Vorbehandlung zugefügtes Wasser) 140 mL ist.
3. Zugabe von Eisessig zu der Mischung, bis dass der pH-Wert 4,8 erreicht. Während der Essigsäurezugabe wird der pH-Wert kontinuierlich überwacht und unter Verwendung eines Magnetrührers gerührt. Das zugefügte Volumen von Essigsäure ist festzuhalten. Wenn der pH-Wert unterhalb von 4,8 abfällt, ist $\text{Ca}(\text{OH})_2$ zu verwenden, um diesen auf 4,8 zu erhöhen.
4. Zugabe von weiterem Wasser, um das gesamte Flüssigkeitsvolumen auf 150 mL zu bringen.
5. Zugabe von 0,259 g Cellulosepulver "Cytolase 300 P" (Filterpapieraktivität, 215 IU/g Pulver) und 0,652 mL Cellobiose "Novozyme" (Aktivität 250 CBU/mL). Cytolase 300 P wurden durch Genecor Inc. (Süd-San Franzisko, CA) bezogen und Cellobiose wurde von Novo Laboratories (Wilton, CT) bezogen. Die Cellulasebeladung betrug 7,4 IU/g trockner vorbehandelter Lignozellulose und die Zellobiosebeladung betrug 22 CBU/g trockne Lignozellulose.
6. Anordnung der Kolben innerhalb des mit 100 U/min. geschüttelten Luftbades bei 50°C
7. Schließen des Kolbens mit Gummistopfen, nachdem die Kolben für 10 Minuten erwärmt wurden.
8. Belassen der Kolben für 3 Tage in dem Bad.
9. Entnahme von 1 mL Proben und Erhitzen zum Kochen derselben für 30 Minuten in mit Kappen versehenen Teströhrchen.
10. Filtrieren der Proben durch 0,45 µm Nylonmembranfilter. Durchführen des DNS-Assays, um, wie unten erläutert, reduzierenden Zucker zu messen.

Beispiel 6 Dinitrosalicylsäure (DNS)-Assay

[0075] Das DNS-Assay ist hier die am häufigsten verwendete Technik zur Messung von reduzierenden Zuckern, die durch Zellulosehydrolyse freigesetzt sind. Ein Glukosestandard wird für die Kalibrierung verwendet, so dass daher die reduzierenden Zucker als "Glukoseäquivalent" gemessen werden.

Erstellung des DNS-Reagenz

1. Lösen von 10,6 g 3,5-Dinitrosalicylsäurekristalle und 19,8 g NaOH in 1.916 ml destilliertem Wasser.
2. Zufügung von 306 g Na-K-Tartrat (Rochel-Salz).
3. Schmelzen von Phenolkristallen unter einem Abzug bei 50°C bei Verwendung eines Wasserbades. Zufügen von 7,6 ml von Phenol zu der oben genannten Mischung.
4. Zufügen von 8,3 g Natrium-meta-bisulfit.
5. Zufügen von NaOH, bei Bedarf, zu der erhaltenden Lösung, um den pH-Wert auf 12,6 einzustellen.

Kalibrierung des DNS-Reagenz

1. Verwendung von 200 mg/dL (2 mg/ml) Glukosestandard, Herstellung von 1 ml Proben in Paaren von Teströhrchen gemäß Tabelle 5.
2. Aufnahme von 0,5 ml von jeder Probe.
3. Einfüllen von 1,5 ml des DNS-Reagenzes in jedes Teströhrchen unter Verwendung einer 5 ml-Brinckmann-Füllvorrichtung.
4. Anordnung der Kappen auf den Röhrchen und Durchmischung im Vortex.
5. Erhitzen der Proben zum Sieden in einem Wasserbad für 15 Minuten.
6. Kühlen der Teströhrchen für einige Minuten, Zugabe von 8 ml von destilliertem Wasser und Vermischen im Vortex.
7. Null-Abgleich des Spektrophotometers bei 550 nm mit destilliertem Wasser (Anmerkung: um das Spektrophotometer zu stabilisieren, sollte es für wenigstens eine Stunde vor der Benutzung eingeschaltet werden).
8. Messen der Extinktion (Absorbanz).
9. Herstellung einer Kalibrierungskurve, wie in [Fig. 4](#) gezeigt.

Messung reduzierender Zucker in den Proben

1. Verdünnen der filtrierten Proben in ein Paar von Teströhrchen, so dass die Zuckerkonzentration zwischen 0,1 bis 1,0 mg/ml liegt.
2. Vermischung der Verdünnten Proben im Vortex.
3. Pipettieren von 0,5 ml von jeder der verdünnten Proben.
4. Verteilen von 1,5 ml DNS-Reagenz in jedes der Teströhrchen.
5. Wiederholen der Schritte 4 bis 8, wie sie bei der Erzeugung der Kalibrierungskurve verwendet wurden.
6. Berechnung der Zuckerkonzentration aus der Extinktion der Proben unter Verwendung der Kalibrierungskurve.
7. Berechnen der Ausbeute an reduzierendem Zucker durch den folgenden Ausdruck:

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

$$Y = \text{Ausbeute an reduzierendem Zucker (mg eq. Glukose/g trockene Biomasse)}$$

$$S = \text{Zuckerkonzentration der Probe (mg eq. Glukose/ml)}$$

$$D = \text{Verdünnungsfaktor}$$

$$20 = 150 \text{ ml Flüssigkeitsvolumen} / 7,6 \text{ g trockene Biomasse}$$

Beispiel 7 Calciumhydroxid-Wiedergewinnung

[0076] Zwei Faktoren sind für eine Wiedergewinnung von Calciumhydroxid aus der vorbehandelten Biomasse motivierend. Als erstes wird ein kostengünstiger Wiedergewinnungs- und Recyclingprozess die Vorbehandlungskosten reduzieren. Als zweites haben hohe Calciumrückstände einen störenden Effekt auf dessen Verwendung als Viehfutter. Die Reduzierung des Calciumgehaltes resultiert daher in einem besser handhabbaren Material. Das Verfahren zur Wiedergewinnung von Ca(OH)_2 besteht darin, das vorbehandelte Material mit Wasser zu waschen und dieses Waschwasser, welches Kalk enthält, mit Kohlendioxid zu kontaktieren oder umzusetzen. Dieses überführt lösliches Ca(OH)_2 in unlösliches CaCO_3 , welches durch Ausfällung entfernt werden kann. Das CaCO_3 kann anschließend erwärmt werden, um CaO und CO_2 zu erzeugen. Das CaO wird zu Ca(OH)_2 hydratisiert, welches als Behandlungsmittel von Lignozellulose wiederverwendet werden kann. Kohlendioxid kann wiederum für die Kalkrückgewinnung verwendet werden. Daher liegt idealerweise ein System vor, durch welches ein vollständiges Recycling durchgeführt werden kann.

[0077] Die Carbonatkonzentration ist vergleichsweise gering, wenn der pH-Wert unterhalb von 9,5 liegt. Daher wird der pH-Wert oberhalb von 9,5 aufrechterhalten, um mehr CaCO_3 zu bilden und auszufällen.

[0078] Die gesamten Wiedergewinnungsexperimente wurden unter Verwendung von Bagasse durchgeführt.

Die Experimente zum Studium des Wiedergewinnungsverfahrens wurden unter Verwendung von zwei unterschiedlichen Ansätzen durchgeführt: Einer kontinuierlichen Wiedergewinnung und einer Batch-Wiedergewinnung.

1. Kontinuierliche Wiedergewinnung

[0079] Ein systematisches Flussdiagramm der experimentellen Apparatur zur kontinuierlichen Wiedergewinnung ist in [Fig. 5](#) gezeigt. Die vorbehandelte Bagasse wurde in einer 1 "I. D. $\times$ 8,5" hohen Glaskolonne vorbehandelt. Gummistopfen an beiden Enden haben Verbindungen für den Einlass (Boden) und den Auslass (Oberseite). Filter (Nylongewebe) wurden an beiden Stopfen verklebt. Eine peristaltische Pumpe (Watson-Marlow, 502S) pumpte Wasser durch die Kolonne. Die mittlere volumetrische Flussrate betrug 20 ml/min. Der Auslass aus der Kolonne war mit einem 300 ml-Kolben verbunden. Kohlendioxid wurde durch die mit Kalk gesättigte Flüssigkeit in diesen Kolben eingeleitet, um CaCO_3 zu bilden. Eine pH-Sonde wurde in diesem Kolben angeordnet, um den pH-Wert kontinuierlich zu überwachen. Der pH-Wert wurde nahe 9,5 gehalten, indem nur soviel CO_2 durchgeleitet wurde, wie erforderlich war, um den pH-Wert von ungefähr 12,0 auf 9,5 abzusinken. Da jedoch eine gute pH-Wertüberwachung fehlte, wenn der pH-Wert unter 9,5 absank, wurde die erforderliche Menge an NH_4OH (ungefähr 1 oder 2 ml) zugefügt, um den pH-Wert zurück auf 9,5 zu bringen. Der Überlauf von dem Kolben wurde einer Filteranordnung zugeleitet. Obwohl das meiste CaCO_3 in dem Kolben verblieb, war eine Filtration erforderlich, um das in dem Überlauf enthaltene CaCO_3 zu entfernen. Ein Glasfaserfilter (G6, Fisher Scientific, Inc.) wurde zwischen der Glasfilterfritte und dem Glaskolben angeordnet. Eine Klammer wurde verwendet, um diesen zu halten und eine gute Abdichtung bereitzustellen. Der Pumpenunterdruck war die treibende Kraft für die Filtration. Die Filter wurden periodisch erneuert, wenn diese mit der CaCO_3 -Paste sich zusetzten. Das filtrierte Wasser wurde anschließend zum Waschen zu der Kolonne zurückgepumpt, um den Kreislauf zu vervollständigen.

[0080] Die Waschung wurde nach ungefähr einer Stunde unterbrochen. Das in dem mit dem Filter verbundenen Glasgefäß verbleibende Waschwasser wurde in den Kolben überführt und für 24 Stunden belassen, damit sich das CaCO_3 absetzen konnte. Eine klare Flüssigkeit (1 ml) wurde dem oberen Bereich des Kolbens entnommen. Die klare Flüssigkeit wurde langsam dekantiert und in einem anderen Becherglas gesammelt. Der wesentlich höhere Gehalte an CaCO_3 enthaltende Bodenbereich wurde nach der Messung seines Volumens entleert. Das gleiche Volumen an Frischwasser wurde zu dem System zugefügt, so dass das Flüssigkeitsvolumen vor und nach dem Absetzen und dem Dekantieren das gleiche blieb. Eine weitere Wiedergewinnung des in der Biomasse verbleibenden Kalks wurde mit diesem Batch an dekantiertem Wasser für ungefähr 45 Minuten durchgeführt. Nach dem Waschen wurde das mit CaCO_3 gesättigte Wasser erneut für eine Ausfällung belassen und eine Probe an klarer Flüssigkeit wurde nach dieser zweiten Ausfällung genommen.

[0081] Um die Calciumkonzentration in dem Wasser während der Waschung zu messen, wurden 1 ml Proben periodisch von dem Einlass und dem Auslass der Kolonne genommen. Die Calciumkonzentration wurde durch das Atomextinktionsgerät gemessen, welches in der Kinetikgruppe der Abteilung Chemischer Verfahrenstechnik der Texas A&M Universität verfügbar war. In Abhängigkeit von der Calciumkonzentration wurden die Proben von 11 auf 135°C verdünnt, da die besten Ausbeuten zwischen 65°C und 100°C erhalten wurden, wobei dieser weite Bereich sicherstellte, dass die optimale Temperatur gefunden wurde. Die Vorbehandlungszeiten von 1 bis 36 Stunden waren nach logischen Gesichtspunkten ausgewählt, da längere Zeiten nur schwer ökonomisch zu rechtfertigen waren. Da eine Vermischung eine Gleichmäßigkeit der Reaktionsmischung sicherstellen würde und wahrscheinlich in einer besseren Vorbehandlung resultieren würde, wurde eine kontinuierliche Schüttelung stets angewandt, ausgenommen in einer Studie, in welcher eine periodische Schüttelung vorgenommen wurde.

[0082] In sämtlichen Experimenten wurden die Ausbeuten an reduzierendem Zucker nach drei Tagen als Maß für die enzymatische Empfindlichkeit der mit Kalk behandelten Bagasse verwendet. Die Ausbeuten an reduzierendem Zucker wurden als mg Glukoseäquivalent/g trockene Bagasse berechnet. Typischerweise wurden 50% und 85% der Drei-Tage-Zucker nach jeweils 6 Stunden und 24 Stunden freigesetzt.

[0083] Tabelle 7 fasst die in den verschiedenen Bagasse-Experimenten verwendeten Bedingungen und Reaktorsysteme zusammen.

[0084] Das Experiment bei 50°C (Bagasse-Experiment, Beispiel 2), Kalkbeladung = 5 g Ca(OH)_2 /100 g trockene Bagasse, Wasserbeladung = 10 g Wasser/g trockene Bagasse, und Behandlungszeiten von 1 und 24 Stunden wurden dreimal wiederholt, um einen bei der Messung der Drei-Tage-Ausbeuten an reduzierendem Zucker beinhalteten Fehler zu finden. Für den einstündigen Lauf wurden Ausbeuten von 112, 125, 111 mg Glu-

koseäquivalent/g trockene Bagasse gefunden, was eine Standardabweichung von 7,8 mg Glukoseäquivalent/g trockene Bagasse ergab. Für den Lauf nach 24 Stunden betrugen die Ausbeuten 273, 256, 268 mg Glukoseäquivalent/g trockene Bagasse, was eine Standardabweichung von 8,7 mg Glukoseäquivalent/g trockene Bagasse ergab. Diese Standardabweichungen können verallgemeinert werden, um auf die übrigen Experimente angewandt zu werden, so dass andere Experimente nicht wiederholt wurden.

Beispiel 8 Calciumacetat-Inhibierungsexperiment

[0085] Hohe Konzentrationen an Calciumacetat waren in der Hydrolysemischung anwesend, da Essigsäure (ungefähr 5 ml als Essigsäure für eine mit einer Kalkbeladung von 30 g Ca(OH)_2 /100 g trockene Bagasse behandelten Probe) verwendet wird, um den Kalk zur Einstellung des pH-Wertes zu neutralisieren. Um die Calciumacetatinhibierung der Enzyme zu messen, wurde ein Experiment durchgeführt, in welchem eine Gruppe Bagasse bei den berichteten optimalen Bedingungen ammonisiert wurde. Diese Ammonisierungsbedingungen waren: Temperatur = 93°C; Behandlungszeit = 30 Min.; Wasserbeladung = 0,25 g Wasser/g trockene Bagasse, Ammoniakbeladung = 1,5 g NH_3 /g trockene Bagasse, Teilchengröße = 40 mesh.

[0086] Des weiteren fand keine Explosion (wie in dem Ammoniak-Faser-Explosionsprozess) statt, da der Druck langsam abgebaut wurde. Dieses vorbehandelte Material wurde in Enzymlösungen hydrolysiert, welche verschiedene Konzentrationen an Calciumacetat enthielten. Die Calciumacetatlösungen wurden durch Hinzufügen unterschiedlicher Mengen an Ca(OH)_2 (entsprechend den für die Vorbehandlungen verwendeten Kalkbeladungen) zu 150 ml Wasser hergestellt und anschließend wurde Essigsäure zugefügt, um den pH-Wert auf 4,8 zu verringern. Daher war die Calciumacetatkonzentration in diesen Lösungen die gleiche, wie die für die mit Kalk vorbehandelten Materialien. Die Enzyme wurden zu den Lösungen nur zugefügt, nachdem der pH-Wert auf 4,8 gebracht war, so dass kein Verlust der Enzymaktivität aufgrund des hohen pH-Wertes auftrat. Die Zuckerausbeute nach drei Tagen, die für diese Ammoniak-behandelten Materialien erhalten wurde, zeigte eindeutig, dass erhöhte Beladungen mit Calciumhydroxid die Zuckerausbeuten aufgrund der Calciumacetatinhibierung der Enzyme verringerten. Für die Probe, welche ohne Zugabe von Ca(OH)_2 zu dem Saccharifizierungskolben hydrolysiert wurde, betrug die Zuckerausbeute 300 mg Glukoseäquivalent/g trockene Bagasse. Diese Ausbeute ist 1,16, 1,14, 1,16, 1,15, 1,25 und 1,22 von derjenigen, die von Proben erhalten wurden, die in den Lösungen mit 2, 5, 10, 15, 20 und 30 g Ca(OH)_2 /100 g trockene Bagasse jeweils hydrolysiert wurden. In den nachfolgenden Experimenten unter Verwendung von Kalkvorbehandlungen wurden diese Faktoren verwendet, um die Zuckerausbeuten zu korrigieren. Da dieser Ansatz vereinfacht ist und nur ungefähr bezüglich der Calciumacetatinhibition korrigiert, werden die Originaldaten (ohne den Korrekturfaktor) zusätzlich zu den korrigierten Daten angegeben.

Beispiel 9 Überblick der Daten (Bagasse)

[0087] Die Ausbeute an reduzierendem Zucker nach drei Tagen für unbehandelte Bagasseproben (als Kontrollprobe verwendet) betrug 40 mg Glukoseäquivalent/g trockene Bagasse, welche nur ungefähr 6% der theoretischen Ausbeute ist. Viele verschiedene Bedingungen, wie sie in Tabelle 7 aufgelistet sind, ergeben höhere Zuckerausbeuten. Sechs Bedingungen mit hohen Ausbeuten sind in Tabelle 8 aufgeführt. Die Auswahl der Bedingungen, welche industriell eingesetzt werden können, wird nicht nur von den Zuckerausbeuten abhängen, sondern ebenfalls von den mit den Bedingungen verbundenen Kosten.

Beispiel 10 Studie mit Zeitungen aus Weichholz

[0088] Zeitungen aus Weichholz sind die größte Fraktion der meisten städtischen Haushaltsabfälle in Feststoffform. Eine profitable Verwendung der Zeitungen aus Weichpapier könnte helfen, das stets wachsende Problem der Entsorgung von Abfällen zu lösen. Die Zusammensetzung von Weichpapierzeitungen ist ungefähr 70% Polysaccharide und 30% Lignin, so dass die theoretische Ausbeute ungefähr 750 mg Glukoseäquivalent/g trockene Zeitungen beträgt. Der Zweck dieser Studie war, die Möglichkeit der Verwendung von Ca(OH)_2 zur Vorbehandlung von Zeitungen zu überprüfen. Die für die Vorbehandlung von Zeitungen aus Weichholz angewandten Bedingungen sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

Beispiel 11 Datenüberblick (Zeitungen)

[0089] Die Ausbeute an reduzierendem Zucker nach drei Tagen aus einer unbehandelten Zeitungsprobe aus Weichholz, die als Kontrollprobe verwendet wurde, betrug 240 mg Glukoseäquivalent/g trockene Zeitungen. Vorbehandlungsprozesse, welche für viele Lignozellulosen gut arbeiten, arbeiten nicht gut für Zeitungen aus Weichholz. Dieses resultiert wahrscheinlich aus deren hohen Ligningehalt. Die Ausbeuteverbesserung mit ei-

ner $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Vorbehandlung, welche in der vorliegenden Studie gefunden wurden, sind mit den aus anderen Vorbehandlungen vergleichbar.

[0090] Von allen den getesteten Bedingungen wurde die beste Ausbeute für 120°C , 24 Stunden, 30 g $\text{C}(\text{OH})_2/100$ g trockene Zeitungen und 16 g Wasser/g trockene Zeitungen erhalten. Diese Ausbeute betrug 344 mg Glukoseäquivalent/g trockene Zeitungen (korrigiert: 430 mg/g). Eine interessante Beobachtung ist, dass die Vorbehandlung besser für entweder sehr schwere Bedingungen (120°C , 24 Stunden) oder sehr milde Bedingungen (65°C , 1 Stunde) arbeitete.

Beispiel 12 Studie mit Weizenstroh

[0091] Weizenstroh ist eines der am meisten verbreiteten Kornrückstände der Landwirtschaft. In den Vereinigten Staaten wird auf ungefähr 20% des Getreideanbaulandes Weizen angebaut, so dass große Mengen von Weizenstroh erzeugt werden. Typischerweise hat, basierend auf dem Trockengewicht, Weizenstroh 30% Zellulose, 36% Hemizellulose und 10% Lignin. Entsprechend dieser Zusammensetzung beträgt die maximale theoretische Ausbeute ungefähr 800 mg Glukoseäquivalent/g trockenes Weizenstroh.

[0092] Die Resultate für Bagasse wurden verwendet, um die Auswahl der Vorbehandlungsbedingungen zu leiten. Die Kalkbeladungen betrugen 5, 10, 15 und 20 g $\text{Ca}(\text{OH})_2/100$ g trockenen Weizenstrohs. Nur zwei Wasserbeladungen wurden verwendet. Behandlungstemperaturen von 50, 65, 85 und 125°C und Behandlungszeiten von 1,3 und 24 Stunden wurden studiert. Eine Zusammenfassung der Behandlungsbedingungen ist in Tabelle 10 zusammengefasst.

Beispiel 13 Datenüberblick

[0093] Wie in dem Fall von Bagasse, erzeugen verschiedene unterschiedliche Bedingungen gute Ausbeuten. Da die Vorbehandlungszeit und Vorbehandlungstemperatur die wichtigsten Einflussgrößen in der Prozessökonomie darstellen, wird die Auswahl der Bedingungen nicht streng von den Zuckerausbeuten abhängen. Acht Bedingungen, welche gute Ausbeuten ergeben, sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Beispiel 14 Studie der Calciumrückgewinnung

[0094] Die besten Ausbeuten sowohl für Bagasse als auch Weizenstroh wurden bei einer Kalkbeladung von 10 bis 20 g $\text{Ca}(\text{OH})_2/100$ g Trockenmaterial erhalten. Ein industrielles Verfahren unter Verwendung derartiger Beladungen würde signifikante Mengen an Kalk benötigen. Das Verfahren zur Wiedergewinnung und Rückführung von Kalk kann den Gesamtbedarf an Kalk vermindern. Da Calciumhydroxid vergleichsweise kostengünstig ist, ist ein Haupterfordernis für einen Rückgewinnungsprozess, dass dieser einfach und nicht teuer ist.

[0095] Ein neues Rückgewinnungsverfahren wurde gemäß dieser Erfindung entwickelt. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ wurde aus der vorbehandelten Biomasse ausgelaugt oder ausgewaschen. Das mit Kalk gesättigte Waschwasser wurde carbonatisiert, um $\text{Ca}(\text{OH})_2$ in unlösliches CaCO_3 umzuwandeln, welches nachfolgend abgesetzt wurde. Das rückgewonnene CaCO_3 kann kalziniert werden, um CaO zu bilden, welches zu $\text{Ca}(\text{OH})_2$ hydratisiert und daher wiederverwendet werden kann. In dieser Studie wurden die Schritte des Waschens, Carbonatisieren und Ausfällen durchgeführt. Die Experimente wurden mit zwei unterschiedlichen Ansätzen durchgeführt, nämlich einem kontinuierlichen Gewinnungsprozess und einem Batch-Rückgewinnungsprozess.

Beispiel 15 Kontinuierlicher Wiedergewinnungsprozess

[0096] Drei Läufe wurden durchgeführt, um $\text{Ca}(\text{OH})_2$ aus Bagasse durch das kontinuierliche Wiedergewinnungsverfahren zurückzugewinnen. Die Bedingungen der Kaltbehandlung, welche in der Studie zur kontinuierlichen Kalkrückgewinnung verwendet wurden, sind in Tabelle 12 aufgeführt. Die Wiedergewinnungsergebnisse für die korrespondierenden Proben sind in Tabelle 13 aufgeführt.

[0097] Der Calciumgehalt in der Rohbagasseprobe betrug 0,4 g Ca/100 g Trockenbagasse. Der Rückstand des Calciumgehaltes in der Bagasseprobe wurde bis auf ungefähr 2 g Ca/100 g Trockenbagasse von 5,4 g Ca/100 g Trockenbagasse (Proben A und C) und auf 2,3 g Ca/100 g Trockenbagasse von 8,1 g Ca/100 g Trockenbagasse (Probe B) abgesenkt. Dies zeigt, dass 68% des zugefügten Calciums aus Proben A und C und 75% des zugefügten Calciums aus der Probe B entfernt wurden. Die Verminderung in einem Gehalt zeigte, dass das Wiedergewinnungsverfahren vergleichsweise gut arbeitete. Wenn jedoch die vorbehandelten Lignozellulosen als Viehfutter verwendet werden, kann diese Restcalciumkonzentration etwas zu hoch sein (1 bis 2

g Ca/100 g trockene Biomasse ist gewünscht).

[0098] Einer der in dem kontinuierlichen Wiedergewinnungsexperiment beobachteten hauptsächlichen Rückschlüsse war, dass eine gewisse Durchtunnelung innerhalb der mit Bagasse gefüllten Kolonne auftrat. Das Waschwasser kontaktierte daher nicht das gesamte vorbehandelte Material. Dieses würde auf jeden Fall die Wirksamkeit des Verfahrens verringern. Unter Verwendung von einem gewissen Packungsmaterial und einer wirksamen Gestaltung der Kolonne würde es möglich sein, die Wirksamkeit des kontinuierlichen Wiedergewinnungsprozesses zu erhöhen. Diese Erfindung verwendet jedoch einen zweiten Ansatz (d. h. eine Batch-Wiedergewinnung), welche einen guten Kontakt durch die Vermischung des Waschwassers und der Biomasse bereitstellte.

Beispiel 16 Batch-Wiedergewinnungsprozess

[0099] In diesem Experiment wird anstelle der Packung des vorbehandelten Materials in einer Säule ein Becherglas verwendet, um die Biomasse mit Waschwasser zu vermischen. Dieses Waschwasser wurde mit CaCO_3 gesättigt und hatte einen pH-Wert von 8,7. Das nach der Filtration erhaltene mit Kalk gesättigte Waschwasser wurde mit CO_2 kontaktiert und der resultierenden CaCO_3 enthaltende Lösung wurde gestattet, sich abzusetzen. Die Vorbehandlungsbedingungen und die korrespondierenden Calciumgehalte sind jeweils in Tabelle 14 und 15 angegeben.

[0100] Die ersten drei Proben (D, E und F) verwendeten sechs Waschungen, wobei die anderen Proben zehn Waschungen verwendeten. Für eine Kalkbeladung von 10 g Ca(OH)_2 /100 g trockene Bagasse (Proben D und E) und sechs Waschungen wurde die Calcium-Konzentration auf ungefähr 1,7 g Ca/100 g trockene Bagasse vermindert und für eine Kalkbeladung von 15 g Ca(OH)_2 /100 g trockene Bagasse (Probe P) mit sechs Waschungen wurde die Calciumkonzentration auf ungefähr 2,2 g Ca/100 g trockene Bagasse vermindert. Es wurden daher ungefähr 75% des zugefügten Calciums entfernt.

[0101] Die Proben F und G erhielten die gleiche Kalkbehandlung. Die Probe F wurde sechsmal gewaschen, wohingegen die Probe G vier zusätzliche Waschungen erhielt. Diese zusätzlichen Waschungen verminderten den Restcalciumgehalt von 2,2 auf 1,5 g Ca/100 g trockene Bagasse. Durch 10 Waschungen war es daher möglich, 86% des zugefügten Calciums zu entfernen.

[0102] Da es möglich ist, dass die Calciumatome chemisch an der Zellulose und an anderen Makromolekülen von Bagasse gebunden sind, kann eine einfache Waschung mit Wasser unterhalb von einer bestimmten Grenze nicht mehr arbeiten. Um die Möglichkeit zu untersuchen, gebundene Calciumionen (+2) durch NH_4^+ -Ionen zu ersetzen, wurde die kalkbehandelte Bagasse mit einer Ammoniumhydroxidlösung gewaschen. Die Konzentration an Ammoniumhydroxid variierte von 0,2 bis 8,7 g NH_4OH /100 g Wasser. Die NH_4OH war eine 30%ige (Gewichtsprozent) Lösung von Ammoniak in Wasser.

[0103] Diese Experimente zeigten, dass das mit Ammoniak versetzte Waschwasser nicht in der Lage war, weiter Calcium wiederzugewinnen.

[0104] In sämtlichen der vorausgehenden Beispiele wurde Ammoniak zu dem carbonatisierten Wasser zugefügt, um den pH-Wert auf 9,5 einzustellen. Dies stellte sicher, dass die Carbonationen dominierten, wodurch eine Ausfällung von CaCO_3 gefördert wurde. Für die Proben R und I wurden Proben zur Calciumanalyse von dem abgesetzten Waschwasser entnommen, welches auf einen pH-Wert von 6,7 carbonatisiert war, und ebenso von sich abgesetztem carbonatisiertem Waschwasser, dessen pH-Wert durch Zugabe von Ammoniak auf 9,5 erhöht worden war. Es wurde gefunden, dass es essentiell ist, den pH-Wert bei ungefähr 9,5 zu haben, um wirksam das CaCO_3 wiederzugewinnen. Obwohl diese Experimente Ammoniak verwendeten, um den pH-Wert auf 9,5 einzustellen, kann dies durch eine gute Kontrolle der CO_2 -Zugabe erzielt werden. Nach der Kalkbehandlung beträgt der pH-Wert ungefähr 11,5. Nur die Menge von CO_2 , welches für eine Reduzierung des pH-Wertes auf 9,5 benötigt war, war zuzufügen.

[0105] Sämtliche der Wiedergewinnungsexperimente zeigen, dass bis auf die Kalkbeladung die anderen Vorbehandlungsbedingungen (d. h. Vorbehandlungszeit, Temperatur und Wasserbeladung) den Wiedergewinnungsprozess nicht beeinflussen. Um zu bestimmen, ob Vorbehandlungsreaktionen existieren, welche den Wiedergewinnungsprozess behindern, wurde der Kalk von unbehandeltem Material, d. h. einer physikalischen Mischung von Bagasse und Ca(OH)_2 wiedergewonnen. Die Calciumkonzentration in dem Waschwasser hatte ein Muster ähnlich zu dem der anderen Proben. Der Restcalciumgehalt betrug 1,3 g Ca/100 g trockene Bagasse, welches der am niedrigsten erhaltene Wert von allen Wiedergewinnungsexperimenten ist. Es erscheint da-

her eine größere Calciumbindung zu der Biomasse resultierend aus dem Vorbehandlungsprozess zu bestehen. Der Effekt ist jedoch klein, da 10 Waschungen von vorbehandeltem Material Rückstände von ungefähr 1,5 bis 1,7 g Ca/100 g trockene Bagasse aufwiesen. Es besteht daher keine große Differenz in dem Wiedergewinnungsprozess für das behandelte Material und für das unbehandelte Material.

[0106] Eine wichtige Frage ist, wie weit eine Atmosphäre CO_2 den pH-Wert erniedrigen kann. Trichoderma reesei-Cellulase arbeitet bei einem pH-Wert von 4,8. Der pH-Wert von un behandelter Biomasse ist ungefähr 11,5, so dass eine Säure zugefügt werden muss, um den pH-Wert zu erniedrigen. Während des Prozesses der Alkoholferrmentation wird viel CO_2 erzeugt, so dass dieses die kostengünstigste Säure für eine pH-Werteinstellung ist. Um diese Frage zu beantworten, wurde ein einfaches Experiment durchgeführt, in welchem durch einige wenige mit Kalk gesättigten Waschwasserproben eine Atmosphäre CO_2 für ungefähr 15 Minuten durchgeleitet wurde. Der minimale pH-Wert, welcher erreicht wurde, betrug ungefähr 6,5. Eine stärkere Säure als CO_2 wird daher erforderlich sein, um den pH-Wert auf 4,8 zu erniedrigen. Es würde am meisten wünschenswert sein, ein Zellsystem zu verwenden, welches bei einem pH-Wert von 7 arbeitet, wie solche in Bakterien (z. B. Clostridium thermocellum).

[0107] Es wird daher festgestellt, dass Calciumhydroxid ein ausgezeichnetes Vorbehandlungsmittel ist. Viele verschiedene Bedingungen erzeugten hohe Zuckerausbeuten. Es bestand keine signifikante Wirkung der Wasserbeladung auf die Zuckerausbeuten, obwohl 10 g Wasser/g Trockenmaterial geringfügig höhere Ausbeuten erzeugte. Kalkbeladungen von 10 und 15 g $\text{Ca}(\text{OH})_2$ /100 g Trockenmaterial arbeiteten gut. Es wurde im allgemeinen gefunden, dass die niedrigeren Temperaturen (50°C, 65°C) längere Zeiten (24 Stunden) erforderten, wohingegen höhere Temperaturen (135°C) kürzere Zeiten (1 Stunde) bedurften, um höhere Ausbeuten zu erzeugen.

[0108] Der Wiedergewinnungsprozess war in der Lage, den Calciumgehalt in der Biomasse von 8,1 auf ungefähr 1,5 g Ca/100 g Trockenmaterial zu reduzieren, was einer Rückgewinnung von 96% des zugefügten Calciums entspricht.

Beispiel 17 Zirkulationsverfahren

[0109] Um die Zugabe von überschüssigem Kalk zu verhindern, kann die Biomasse mit einer Lösung von heißem Kalkwasser kontaktiert werden. Dies kann in einer Anzahl von Wegen durchgeführt werden:

[0110] Verfahren 1: Eine Lösung von heißem (Temperaturbereich von ungefähr 40°C bis ungefähr 150°C) gesättigtem Kalkwasser wird durch ein gepacktes Bett an Biomasse für einen Zeitraum von ungefähr 1 Stunde bis ungefähr 36 Stunden zirkuliert. Sowie die Lösung aus dem Bett austritt, wird sie erhitzt, um den Wärmeverlust in dem gepackten Bett zu ersetzen. Die Lösung an gesättigtem Kalkwasser kann durch Vermischen von überschüssigem Kalk mit Wasser und Abtrennung des überschüssigen festen Kalks von der Wasserphase durch Filtration, Hydroclon-Separation ([Fig. 6](#)), Absetzen oder Zentrifugieren abgetrennt werden.

[0111] Verfahren 2: Eine Lösung von heißem (Temperaturbereich von ungefähr 50°C bis ungefähr 150°C) gesättigtem Kalkwasser wird durch eine gerührte Aufschlammung von Biomasse für einen Zeitraum von ungefähr 1 Stunde bis ungefähr 36 Stunden zirkuliert. Die Biomasse wird von der Lösung durch einen Filter, Hydroclon ([Fig. 7](#)), Absetzer oder Zentrifuge abgetrennt. Sowie die Lösung aus dem Hydroclon austritt, wird sie erwärmt, um den Wärmeverlust in der gerührten Biomasseaufschlammung zu ersetzen. Die Lösung von gesättigtem Kalkwasser kann durch Mischen überschüssigen Kalks mit Wasser und Abtrennung des überschüssigen festen Kalks von der Wasserphase durch Filtration, Hydroclon-Abtrennung ([Fig. 7](#)), Absetzen oder Zentrifugieren hergestellt werden.

[0112] In jeder der Methoden 1 oder 2 müssen die Kalkfeststoffe stets in Kontakt mit heißem Wasser bei der höchsten Temperatur in dem Kreislauf gehalten werden, wie zwischen 40°C und 150°C. Dies ist erforderlich, da Kalk in kaltem Wasser relativ stärker löslich ist, als in heißem Wasser. Falls das mit den Kalkfeststoffen in Kontakt tretende Wasser kalt wäre, würde es zuviel Kalk lösen. Wenn dann die Kalklösung später erwärmt werden würde, würde der Kalk entweder ausfallen und den Wärmetauscher zusetzen oder sich auf der Biomasse absetzen. Dieses erklärt, warum das Wasser erwärmt wird, bevor es mit den Kalkfeststoffen in Kontakt tritt, und nicht anschließend.

Beispiel 16 Verschiedene Permutationen

[0113] Die für diese Erfindung verwendeten Materialien umfassen: Biomasse, Kalk oder Calciumhydroxid und

Wasser. Die Handhabungsprozeduren für diese Erfindung umfassen: Mischen, Erwärmen und gleichzeitiges Mischen und Erwärmen. Diese Materialien und Prozeduren sind daher in der Lage, in einer Anzahl von Permutationen aufzutreten, wie schematisch in [Fig. 8](#) gezeigt ist. Die in [Fig. 8](#) gezeigte Notation ist: L – Kalk; W – Wasser; B – Biomasse; M – Mischen; H – Erhitzen; und M&H – gleichzeitiges Mischen und Erhitzen. Ein Pfeil in [Fig. 8](#) zeigt die Zugabe, Einführung oder einen durchzuführenden Schritt an.

Beispiel 19 Kalkbehandlungsprozess für Tierfutterproduktion für Wiederkäuer

[0114] [Fig. 9](#) zeigt das Kalkbehandlungsverfahren für die Tierfutterproduktion für Wiederkäuer. Der Kalk kann, wie gezeigt, direkt der Biomasse zugefügt werden. Alternativ kann die Biomasse mit einer zirkulierenden Lösung von gesättigtem Kalkwasser kontaktiert werden, um eine überschüssige Kalkzugabe zu vermeiden. Unabhängig von dem Zugabeverfahren wird die rohe Biomasse in heißem (ca. 65°C) Kalkwasser für ungefähr 24 Stunden eingeweicht. Anschließend, nachdem die Reaktion vollständig ist, wird das Kalkwasser durch eine Extinktionskolonne im Kreislauf geführt, wo es mit Kohlendioxid in Kontakt kommt. Das Kohlendioxid reagiert mit dem Kalk unter Bildung von unlöslichem Calciumcarbonat, welches abfiltriert wird und zu einem Kalkofen gebracht wird. Das Calciumcarbonat wird auf ungefähr 1200°C im Kalkofen erhitzt, welcher das Kohlendioxid austreibt. Die heißen Abgase (primär Kohlendioxid mit etwas Stickstoff aus der Verbrennungsluft) werden in einem Gegenstromwärmetauscher unter Rückgewinnung von Hochdruckdampf, welcher für die Stromerzeugung und/oder als Prozesswärme verwendet werden kann, gekühlt. Das gekühlte Kohlendioxid wird zu der Extinktionskolonne zurückgeführt, wo das Kohlendioxid erneut mit dem Kalkwasser reagiert. Inerte Stoffe wie beispielsweise Stickstoff werden aus der Extinktionskolonne austreten. Kohlendioxid muss zugefügt werden, um jegliche Wärmeverluste zu ersetzen.

[0115] Das zirkulierende Kalkwasser wird freie Zucker und Protein enthalten, welche von der Biomasse extrahiert sind. Des weiteren wird dort eine gewisse Menge Calciumacetat aus den Acetylgruppen der Hemicellulose erzeugt werden. Ein Lüftungsstrom wird von dem zirkulierenden Umlauf entnommen werden, welcher mit Schwefelsäure angesäuert wird, so dass die Calcium-Ionen als Gips niedergeschlagen werden. Die freien Zucker, Proteine und Essigsäure (HAc) werden durch eine geeignete Technologie (z. B. Umkehrosmose oder Multi-Effekt-Verdampfung) konzentriert werden. Er kann als monogastrisches (z. B. Hühnchen, Schweine) Tierfutter verkauft werden.

[0116] Die vorbehandelte Biomasse wird aus dem Prozess in einem feuchten Zustand freigesetzt werden. Wenn die Wiederkäuer nahe an der Herstellungsanlage gehalten werden, können diese die Biomasse direkt in feuchtem Zustand als Nahrung zu sich nehmen. Wenn diese für einen Zeitraum gelagert werden muss, bevor diese konsumiert werden kann, kann diese in einem Dampftrockner getrocknet werden, wie wir ihn in früheren Veröffentlichungen beschrieben haben.

Beispiel 20 Vorbehandlungen mit Calciumhydroxid und druckbeaufschlagtem Sauerstoff

[0117] Es wird angenommen, dass Sauerstoff das Lignin teilweise oxidiert, welches die Biomassestruktur öffnet und diese besser enzymatisch verdaubar macht. Sauerstoff aus Hochdrucksauerstofftanks wurde zu den Proben aus Zeitungen unter steigendem Druck zugefügt ([Fig. 10](#)). Die Behandlungsbedingungen waren konsistent mit den zuvor beschriebenen. Die Temperatur der Biomasse betrug 120°C für 24 Stunden mit 30 g Calciumhydroxid/100 g trockener Zeitung und Wasser mit 16 g/g trockener Zeitung. Steigende Mengen von Sauerstoff enthaltendem Gas wurden in die Zeitungspalten aus Hochdrucktanks eingeleitet. Nach der Vorbehandlung wurden die Proben enzymatisch verdaut und die Ausbeute von Glukose nach drei Tagen bestimmt. Nur mit Kalk behandelte Zeitungen ergaben eine Ausbeute von 418 mg Glukoseäquivalent/g trockene Zeitung. Für Vergleichszwecke ergibt unbehandelte Rohzeitung Ausbeuten von 260 mg Glukoseäquivalent/g trockene Zeitung. Mit 138 kN/m² (20 psig) erhöhte sich die Glukoseausbeute über 10%. Mit zunehmendem Sauerstoffdruck bis auf 690 kN/m² (100 psig) erhöhte sich die Glukoseausbeute auf über 500 mg Äquivalent.

[0118] Nützliche Sauerstoffdrucke liegen zwischen ungefähr 138 kN/m² (ungefähr 20 psig) bis ungefähr 3448 kN/m² (ungefähr 500 psig) und sind vorzugsweise zwischen ungefähr 690 kN/m² bis ungefähr 2758 kN/m² (ungefähr 100 bis ungefähr 400 psig). Sauerstoff wird der Biomasse aus Hochdruckquellen wie beispielsweise reinem Sauerstoffgas, Sauerstoff enthaltendem Gas oder Druckluft zugeführt.

[0119] In einer zweiten Reihe von Experimenten ([Fig. 11](#)) wurden Zeitungspapierproben mit Kalk mit 30 g/100 g trockener Zeitung, Wasser mit 6 g/g trockener Zeitungen und Sauerstoff mit 690 kN/m² (100 psig) vorbehandelt. Diese Proben wurden für bis zu 24 Stunden vorbehandelt. Die vorbehandelten Proben wurden enzymatisch verdaut und der Zuckergehalt bestimmt. Die maximale Ausbeute mit einem Sauerstoffdruck von 690

kN/m² (100 psig) wurde nach einer Vorbehandlung von drei Stunden beobachtet – 580 mg Äquivalent Glukose/g trockener Zeitung.

[0120] Andere Ausführungsformen und Verwendungen der Erfindung werden dem Fachmann unter Betrachtung der Beschreibung und der hier offenbarten Ausübung der Erfindung ersichtlich sein. Es ist beabsichtigt, dass die Beschreibung und die Beispiele beispielhaft betrachtet werden, wobei der wahre Schutzzumfang und Gedanke der Erfindung durch die nachfolgenden Ansprüche angezeigt wird.

Tabelle 1 Für die Vorbehandlung von Lignozellulosen verwendete Verfahren

<u>Physikalisch</u>	<u>Chemisch</u>	<u>Chemisch (Forts.)</u>	<u>Physikochemisch</u>	<u>Biologisch</u>
Kugelmahlen	<u>Alkali</u>	<u>Oxidationsmittel</u>	Dampfexplosion	Pilze
Zwei-Rollen-Mahlen	Natriumhydroxid	Wasserstoffper oxid	Ammoniakfaserexplosion	
Hammer-Mahlen	<u>Kalziumhydroxid</u>	Ozon		
Kolloid-Mahlen	Ammoniak	<u>Celluloselösungsmittel</u>		
Hochdruckdampfbehandlung	<u>Sauer</u>	<u>Lösungsmittellextraktion</u>		
Hochenergiebestrahlung	Schwefelsäure	Ethanol-Wasser-Extraktion		
Pyrolyse	Salzsäure	Benzol-Ethanol-Extraktion		
	Fluorwasserstoffsäure			
	<u>Gas</u>			
	Chlordioxid			
	Stickstoffdioxid			

Biologische Vorbehandlungen

Tabelle 2 Berichtete Ammonisierungsbedingungen

Fundstelle	Biomasse A	Ammoniak-Zustand	Temperatur (°C)	Zeit	Druck	Teilchen-größe	gNH ₂ /kg trockene Biomasse	Wirkung auf Verdaubarkeit
Villareal, 1988	Bermuda-See gras	gasförmig	Umgebungs-temperatur	--	atmosphä-risch	--	40	Erhöhung in DIT, C _p ¹
Waiss et al., 1972	Reisstroh	NH ₄ OH	160	1 Stunde	---	0,64 cm	26/52	erhöht ²
Waiss et al., 1972	Reisstroh	NH ₄ OH	Umgebungs-temperatur	30 d	atmosphä-risch	0,64 cm	50	erhöht ¹
Millet et al., 1970	Espen-Sägespäne	flüssig	30/60/90	1 Stunde	1069/2482/4 999 kN/m ² (155/360/ 725 psi)	--	--	erhöht um 51 % ²
Millet et al., 1970	Espen-Sägespäne	gasförmig	30	½ bis 74 Stunden	1069 kN/m ² (155 psi)	--	--	erhöht um 47 % ²
Brown et al., 1987	Limbo-Gras	gasförmig	Umgebungs-temperatur	30 d	atmosphä-risch	2,5 cm	20/30/40	erhöht ¹
Kellens et al., 1983	Weizenstroh	NH ₄ OH	29	21 d	atmosphä-risch	2 mm	50	erhöht von 13% bis 33% ²
Kellens et al., 1983	Weizenstroh	gasförmig	6	44 d	atmosphä-risch	2,5 cm	50	erhöht ¹
Hultquist, 1982	Alfalfa	flüssig/gasförmig	20-30	30 m	483-1138 kN/m ² 70-165 psig)	1/16-1/2 in.	5/20	erhöht um 50 % ²

Fundstelle	Biomasse A	Ammoniak- Zustand	Temperatur (°C)	Zeit	Druck	Teilchen- größe	gNH ₂ /kg trockene Biomasse	Wirkung auf Verdaubar- keit
Millet et al., 1975	Espen- Sägespäne	gasförmig	--	2 Stunden	483 kN/m ² (70 psi)	--	--	erhöht 46 % ¹ um
Morris et al., 1980	Kornstroh (stover)	--	Umgebungs- temperatur	--	atmosphä- risch	1,3 cm	30	Erhöhung in DIT, DE ¹

¹ = In vivo

² = In vitro

Tabelle 3 berichtete NaOH-Behandlungsbedingungen

Fundstelle	Biomasse Art	Temperatur (°C)	Zeit	Teilchen- größe	g NaOH/100 g Lösung	g NaOH/100 g Biomasse	Wirkung auf Verdaubar- keit
Moore et al., 1972	Baumwoll- flusen	30	1 Stunde	40 mesh	1	20	keine Wirkung ²
Moore et al., 1972	Espe	30	1 Stunde	40 mesh	1	20	erhöht von 10 % bis 50 % ²
Millet et al., 1970	verschiedene Holzproben	25	1 Stunde	--	1	20	erhöht ²
Fient et al., 1970	verschiedene Holzproben	25	1 Stunde, 2 Stunden	40 mesh	0,5, 1	2 - 20	erhöht ²
Baker et al., 197570	Espen- Sägespäne	Umgebungs- temperatur	2 Stunden	0,16 cm	0,5	5	Erhöhung von 41 % bis 52 % ¹
Anderson et al., 1973	Roggengras	Umgebungs- temperatur	24 Stunden	2,54 cm	0,5 - 8	7,5 - 120	Erhöhung von 33 % bis 90 % ²
Mandels et al., 1974	Bagasse	72	1 Stunde	1/8" mesh	2	--	erhöht ²
Mandels et al., 1974	Zeitung	70	90 m	1/8" mesh	2	100	erhöht ²
Turner et al., 1990	verschiedene Grasarten	--	48 m	4 mm	3	--	erhöht ²

verwendete Bezeichnung: ¹ - In vivo, ² - In vitro

Tabelle 4 Ca(OH)₂-Behandlungsbedingungen

Fundstelle	Biomasse A	Temperatur (°C)	Zeit	Teilchen- größe	g Wasser/ g Lösung	g Ca(OH) ₂ /100 g Biomasse	Wirkung auf Verdaubar- keit
Playne, 1984, 1972	Bagasse	20	8 d	2,25	0,87	12 bis 30	erhöht von 19% bis 72% ²
Waller et al., 1975	Maiskolben	Umgebungs- temperatur	14 d	gemahlen	0,6	4	verbesserte Verdaubarkeit ¹
Rounds et al., 1974	Maiskolben	--	--	--	--	4	keine Wirkung ²
Gharib et al., 1975	Pappelrinde	Umgebungs- temperatur	1 oder 150 d	9,5 mm	0,6	4 bis 16	erhöht von 30% bis 52% ²
Felix et al., 1990	Soja- bohlenstroh	Umgebungs- temperatur/ gefroren	30 d	geschnitzelt	0,65	2 bis 5	keine Wirkung ¹

verwendete Bezeichnung: ¹ - In vivo, ² - In vitro

Tabelle 5 Erstellung von Standardlösungen für die Glukosekalibrierung (für Filterpapier-Assay)

Glukose-Konz. (mg/ml)	Glukosegewicht (mg)	Standard (ml)	destilliertes Wasser (ml)
1,0	0,5	0,10	0,40
2,0	1,0	0,20	0,30
3,0	1,5	0,30	0,20
4,0	2,0	0,40	0,10
5,0	2,5	0,50	0,00

Tabelle 6 Erstellung von Standardlösungen für die Glukosekalibrierung (für DNS-Assay)

Glukose-Konzentration (mg/ml)	Standard (ml)	destilliertes Wasser (ml)
0,2	0,10	0,90
0,4	0,20	0,80
0,6	0,30	0,70
0,8	0,40	0,60
1,0	0,50	0,50

Tabelle 7 Zusammenfassung der während verschiedener Bagasse-Experimente verwendeten Bedingungen

verwendete Bedingungen	Reaktorsystem	Temperatur (°C)	Zeit (Stunde)	Kalkbelastung (g Ca(OH) ₂ /100 g)	Wasserbelastung (g Wasser/g)	Teilchen-größe
1	1	65	1, 3, 6, 12, 24, 26	30	10, 15, 19	-40 mesh
2	2	65	24	30	6, 8, 10, 13, 15, 17, 19	-40 mesh
3	3	65, 125	12, 6	30	6, 8, 10, 13, 15, 17, 19	-40 mesh
4	3	135	1, 3, 6, 24	10, 20, 30	10, 15	-40 mesh
5	3	100	1, 3, 24	10, 20, 30	10, 15	-40 mesh
6	1	50	1, 3, 6, 24	2, 5, 10, 15, 20, 30	10	-40 mesh
7	3	85	3, 24	5, 10, 15, 20	10	-40 mesh
8	3	65	3, 6, 24	5, 10, 15, 20	10	-40 mesh
9	3	65	24	10, 15	10	-1 x 1 mm +40 mesh

Tabelle 8 Hohe Ausbeuten ergebende Bedingungen

Proben-Nummer	Temperatur (°C)	Zeit (Stunde)	Kalzium- beladung (g/100 g)	Wasser- beladung (g/g)	ursprüngliche Ausbeute (mg/g)	korrigierte Ausbeute (mg/g)
1	65	24	30	10	597	728
2	100	24	10	10	580	673
3	65	24	15	10	555	640
4	65	24	10	10	533	618
5	100	1	10	15	525	609
6	135	1	10	10	517	600

Tabelle 9 Zusammenfassung der in verschiedenen Zeitungspapier-Experimenten verwendeten Bedingungen

Experiment Nummer	Reaktorsystem	Temperatur (°C)	Zeit (Stunde)	Kalkbelastung g Ca (OH) ₂ /100 g	Wasserbelastung g Wasser/g
1	3	120	1, 3, 6, 24	30	6, 8, 10, 12, 14, 16
2	3	60	1, 6, 24	5, 10, 20, 30	10
3	3	100	24, 3	5, 10, 15, 20, 30	10, 15

Tabelle 10 Zusammenfassung der während verschiedener Experimente mit Weizenstroh verwendeten Bedingungen

Experiment Nummer	Reaktorsystem	Temperatur (°C)	Zeit (Stunde)	Kalkbeladung g Ca (OH) ₂ /100 g	Wasserbeladung g Wasser/g
1	3	65	3, 24	10	6, 10, 15, 19
2	3	65	1, 3	5, 10, 15, 20	10
3	1	50	3, 24	5, 10, 15, 20	10, 15
4	3	85	1, 3, 24	5, 10, 15, 20	10
5	3	125	1, 3, 12, 24	5, 10, 15, 20	10

Tabelle 11 Hohe Ausbeuten ergebende Bedingungen bei mit Kalk behandeltem Weizenstroh

Proben-Nummer	Temperatur (°C)	Zeit (Stunde)	Kalzium- beladung (g/100 g)	Wasser- beladung (g/g)	ursprüngliche Ausbeute (mg/g)	korrigierte Ausbeute (mg/g)
1	50	24	10	15	585	679
2	85	3	10	10	579	672
3	50	24	20	10	575	667
4	85	3	20	10	559	698
5	85	24	20	10	559	698
6	50	3	10	10	555	639
7	65	24	10	10	543	630
8	125	1	10	10	533	618

Tabelle 12 Für die Behandlung von Bagasse bei kontinuierlicher Rückgewinnung verwendete Bedingungen

Probe	Temperatur (°C)	Zeit (Stunden)	Kalkbelastung (g/100 g)	Wasserbelastung (g/g)
A	85	3	10	10
B	85	3	15	10
C	100	1	10	10

Tabelle 13 Veränderung der Kalziumkonzentration während der kontinuierlichen Rückgewinnung

Kalziumkonzentration im Waschwasser		Kalziumkonzentration in Bagasse g/100 g			
Probe	(ppm) ursprünglich	(ppm) endgültig	(ppm) ursprünglich	(ppm) endgültig	
A	1075	33	5,4	2,1	
B	1392	10	8,1	2,3	
C	947	19	5,4	2,0	

Tabelle 14 Für die Behandlung von Bagasse in Batch-Wiedergewinnung verwendete Bedingungen

Probe	Temperatur (°C)	Zeit (Stunden)	Kalziumbeladung (g/100 g)	Wasserbeladung (g/g)
D, E	65	24	10	10
F, G, H, I, J, K	65	24	15	10

Tabelle 15 Veränderung der Kalziumkonzentration während der Batch-Wiedergewinnung

Probe	Anzahl der Waschungen	(g NH ₄ OH/100 g) Waschwasser	Kalziumkonzentration in Waschwasser (ppm) ursprünglich	(ppm) endgültig	Kalziumkonzentration in Ba- gasen (ppm) ursprünglich	(ppm) endgültig
D	6	0	955	7	5,4	1,7
E	6	0	892	16	5,4	1,7
F	6	0	1109	14	8,1	2,2
G	10	0	1192	13	8,1	1,5
H	10	0,2	1154	6	8,1	1,5
I	10	0,4	1056	6	8,1	1,4
J	10	1,6	1306	12	8,1	1,6
K	10	8,7	1070	4	8,1	1,7
Unbehandelt	10	0	988	8	8,1	1,3

Patentansprüche

1. Verfahren zur Vorbehandlung von Lignocellulose enthaltender Biomasse, umfassend die Zugabe von Calciumhydroxid und Wasser und eines Oxidationsmittels ausgewählt aus Sauerstoff und Sauerstoff-enthaltende Gase zu der Biomasse, um eine Mischung zu bilden, und Vorbehandlung der Biomasse zur Oxidation ohne Zersetzung der Lignocellulose durch Beibehaltung der Mischung bei 40°C bis 150°C für einen Zeitraum von zwischen einer Stunde und 36 Stunden, wobei die Mischung zwischen 6 bis 19 Gramm Wasser je Gramm der trockenen Biomasse enthält.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Mischung 16 Gramm Wasser je Gramm trockener Biomasse enthält.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Lignocellulose enthaltende Biomasse mehr als 15% Lignin enthält.
4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die Lignocellulose enthaltende Biomasse mehr als 20% Lignin enthält.
5. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei das Oxidationsmittel zu der Mischung unter Druck zugefügt wird.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Oxidationsmittel zu der Mischung bei einem Druck von zwischen 138 bis 3448 kN/m² (20 bis 500 psig) enthält.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung zwischen 2 bis 30 Gramm Calciumhydroxid je 100 Gramm trockener Biomasse enthält.
8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Lignocellulose enthaltende Biomasse ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Gras, Holz, Bagasse, Stroh, Papier, Pflanzenmaterial und Kombinationen von diesen.
9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung bei der Temperatur von zwischen 40°C bis weniger als 100°C beibehalten wird.
10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Zeitraum zwischen 1 und 20 Stunden beträgt.
11. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Mischung bei einer Temperatur von 120°C für 3 Stunden beibehalten wird und der Druck des Oxidationsmittels 690 kN/m² (100 psig) beträgt.
12. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Verfahren weiterhin eine Verdauung der vorbehandelten Biomasse der Mischung umfasst, um die Biomasse in das nützliche Produkt zu überführen.
13. Verfahren nach Anspruch 12, wobei die Biomasse durch Säurehydrolyse, enzymatische Einwirkung, Fermentation oder eine Kombination derselben verdaut wird.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, wobei ferner eine Carbonisierung der vorbehandelten Mischung oder eines flüssigen Anteils derselben mit einem Carbonisierungsmittel umfasst ist.
15. Verfahren nach Anspruch 14, wobei das carbonisierende Mittel Kohlenstoffdioxidgas ist
16. Verfahren nach Anspruch 14 oder 15, wobei der pH-Wert der carbonisierten Mischung zwischen 8,5 und 10,5 beträgt.
17. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 16, wobei die carbonisierte Mischung Calciumcarbonat bildet und des Weiteren eine Präzipitation des Calciumcarbonats umfasst.
18. Verfahren nach Anspruch 17, welches des Weiteren eine Wiedergewinnung des präzipitierten Calciumcarbonats durch Filtration, Hydroclon-Trennung, Sedimentation, Zentrifugation oder eine Kombination derselben umfasst.

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 16, welches ferner eine Erwärmung der carbonatisierten Mischung, um Kohlenstoffdioxid und Calciumoxid zu bilden, und eine Wiedergewinnung des Calciumoxids, umfasst.

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 16, welches ferner eine Verdauung der carbonatisierten Mischung, Trennung der verdauten Mischung in ein nützliches Produkt und eine Rückstandsmischung, Erwärmung der Rückstandsmischung, um das Calciumcarbonat in Calciumhydroxid zu überführen, und Rückgewinnung des Calciums als Calciumhydroxid umfasst.

21. Verfahren nach Anspruch 19 oder 20, wobei die Erwärmung eine Verbrennung des verbleibenden Lignins der verdauten Biomasse umfasst.

Es folgen 8 Blatt Zeichnungen

FIG. 1

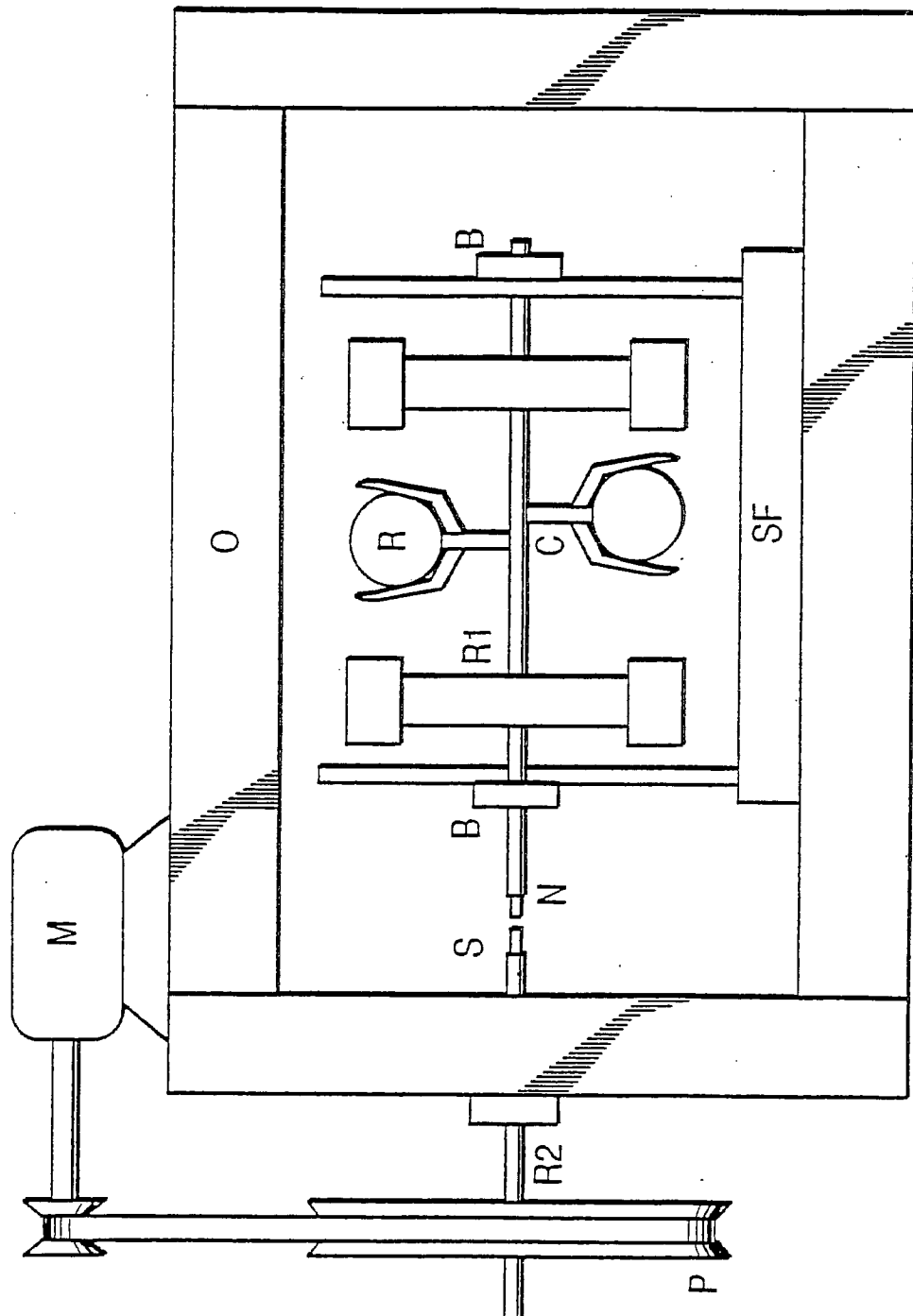


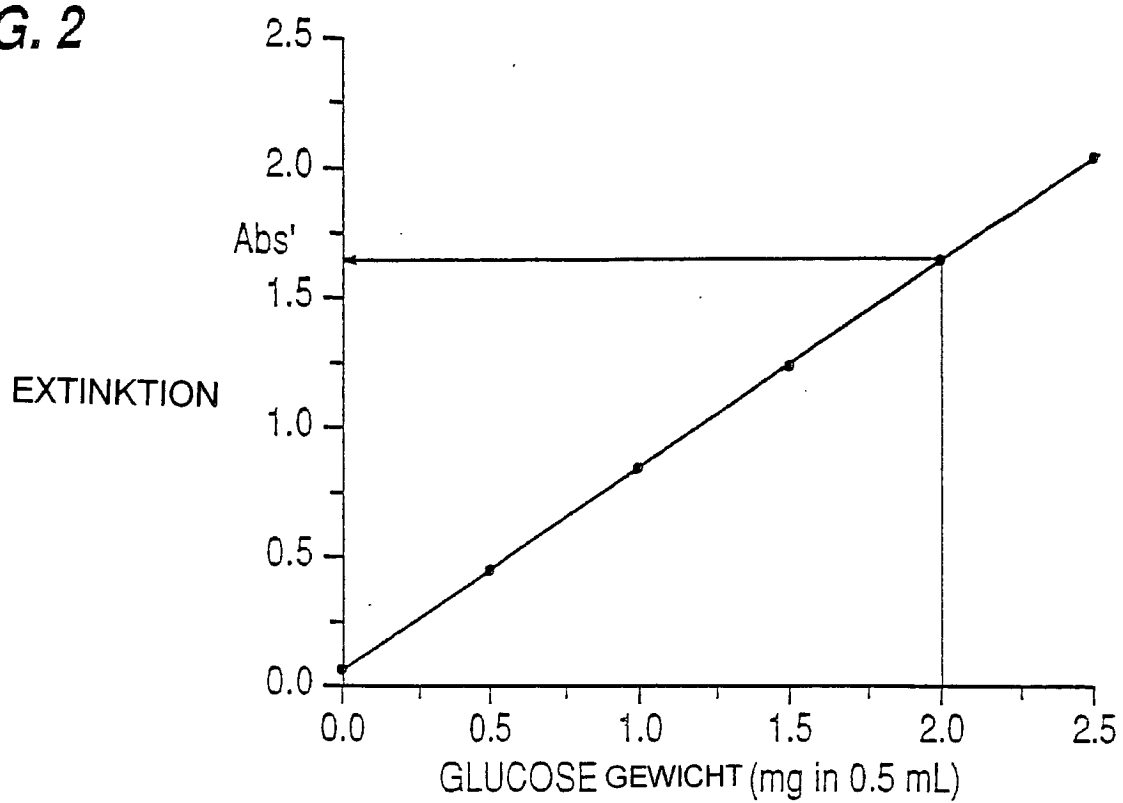
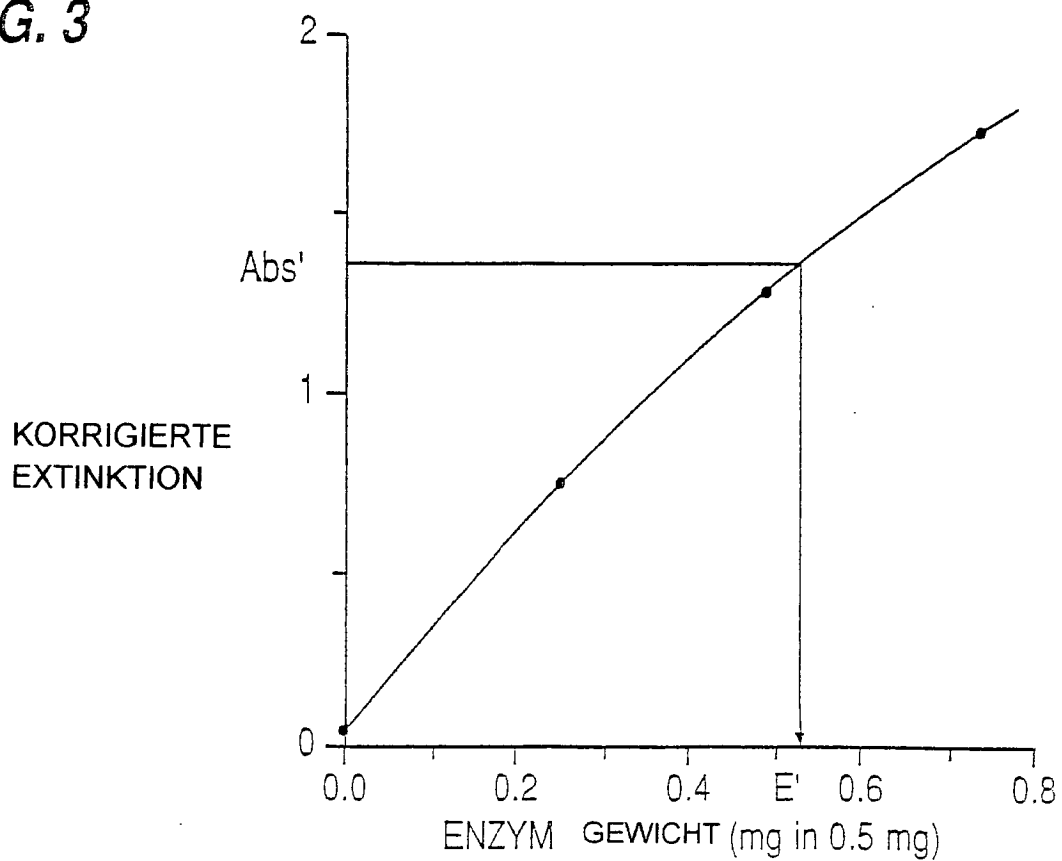
FIG. 2**FIG. 3**

FIG. 4

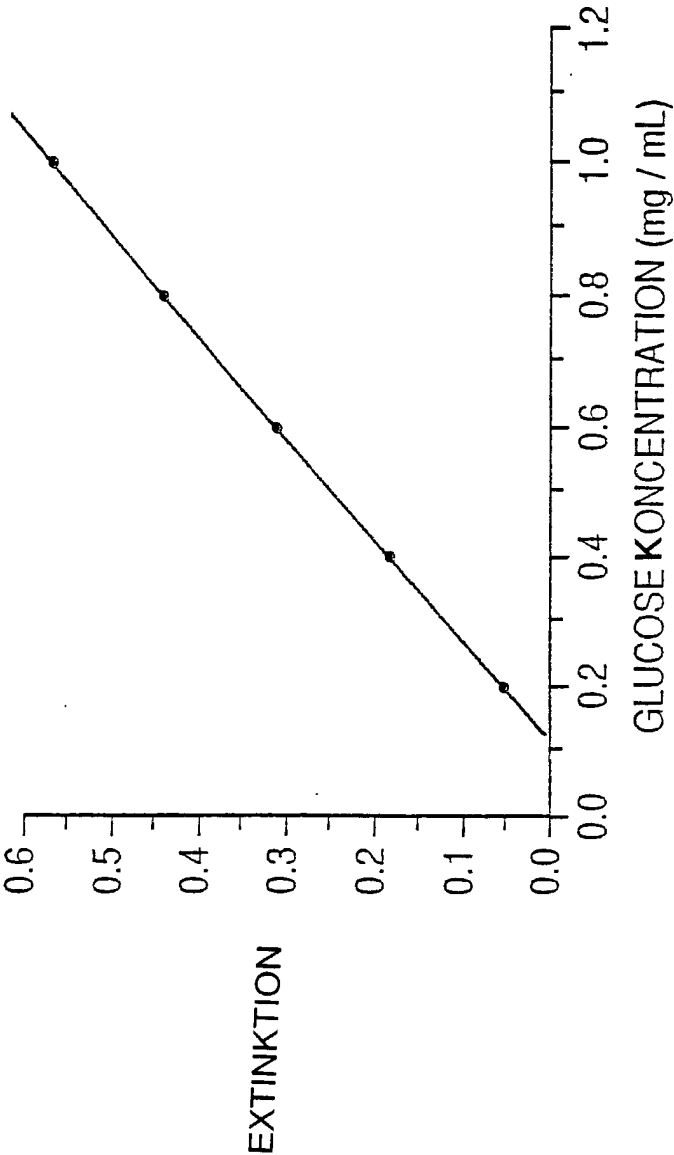


FIG. 5

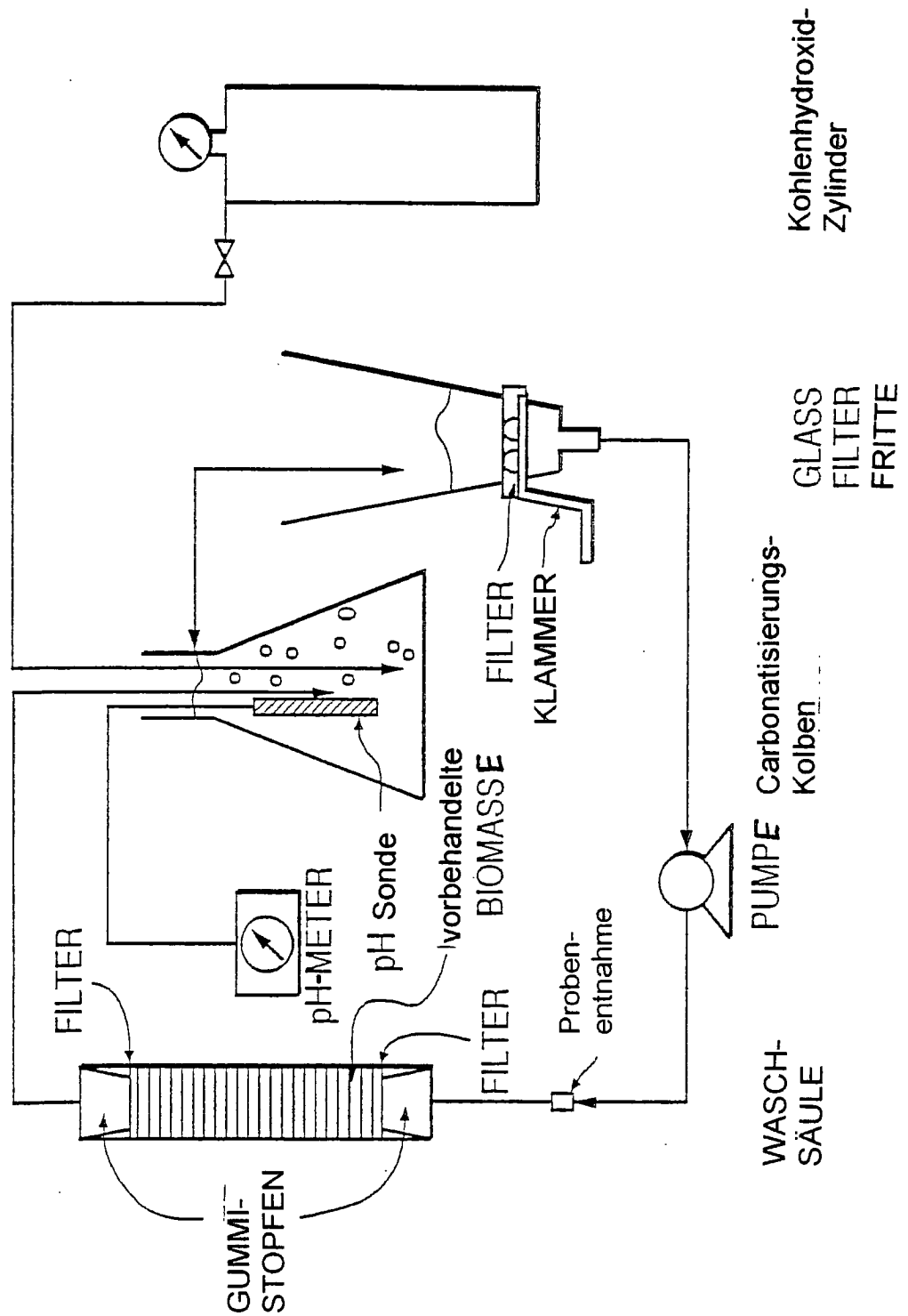


FIG. 6

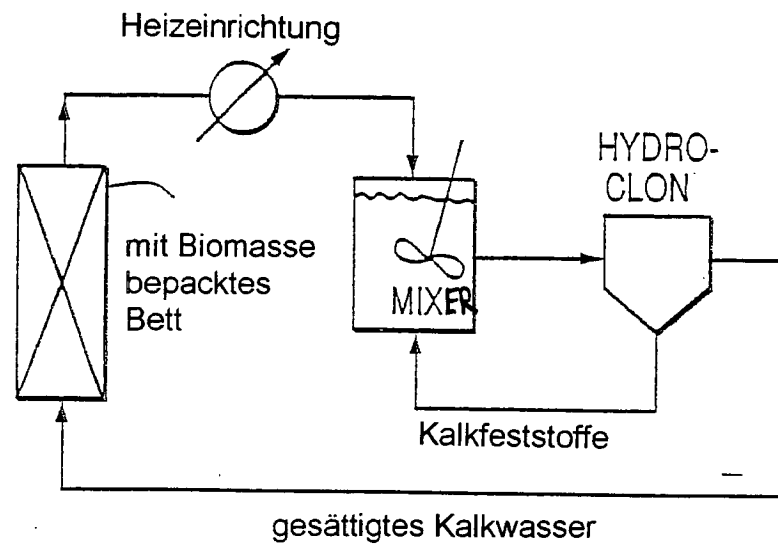


FIG. 7

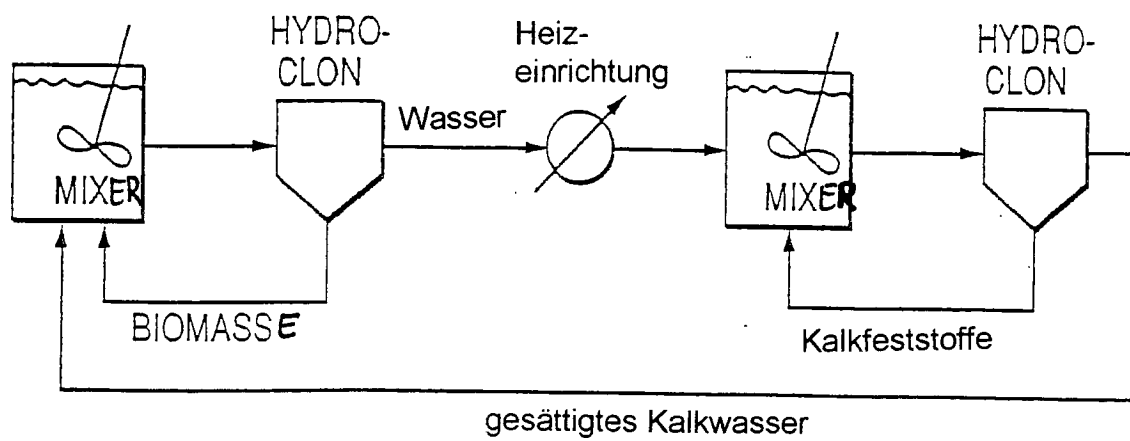


FIG. 8

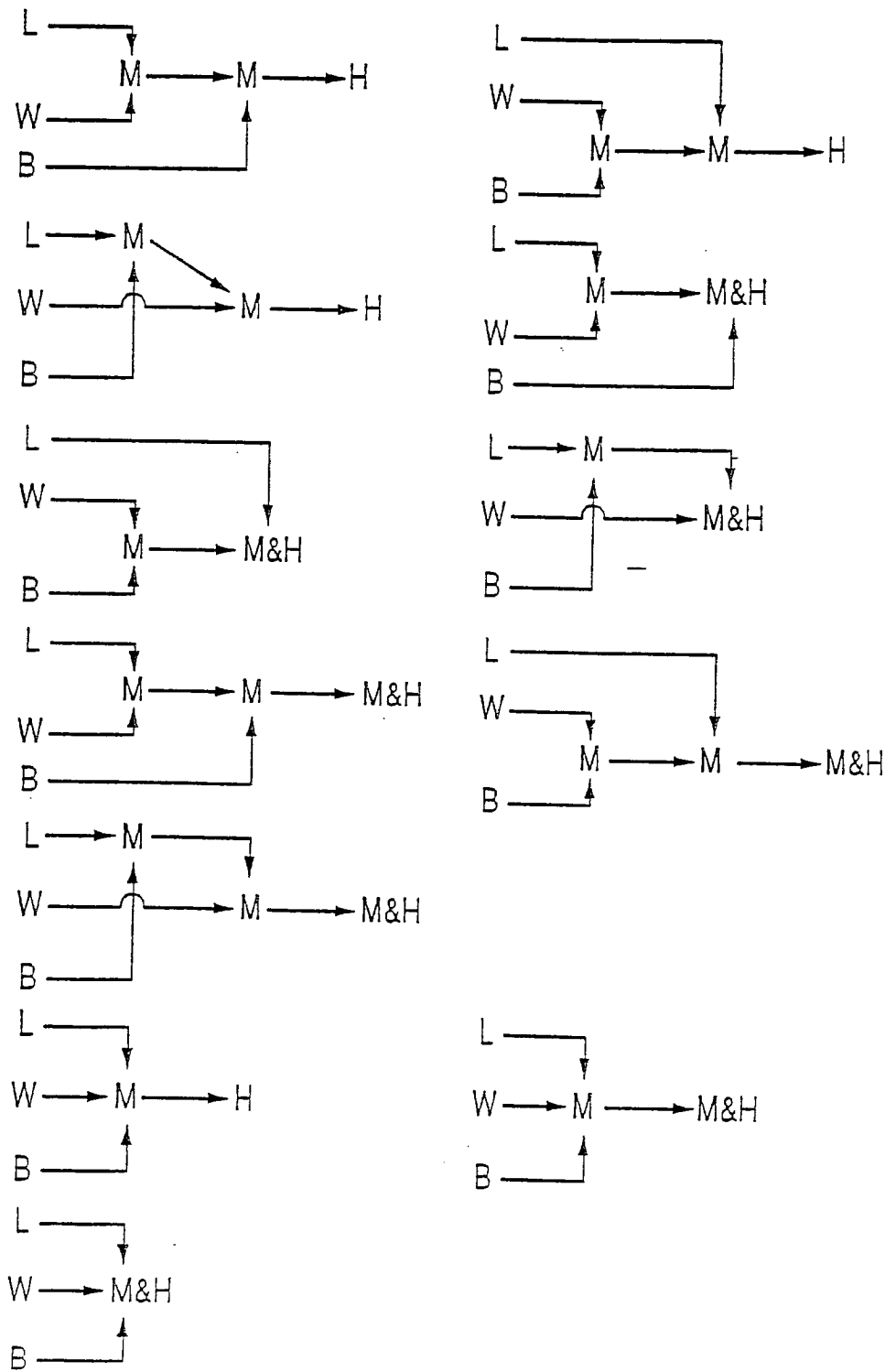


FIG. 9

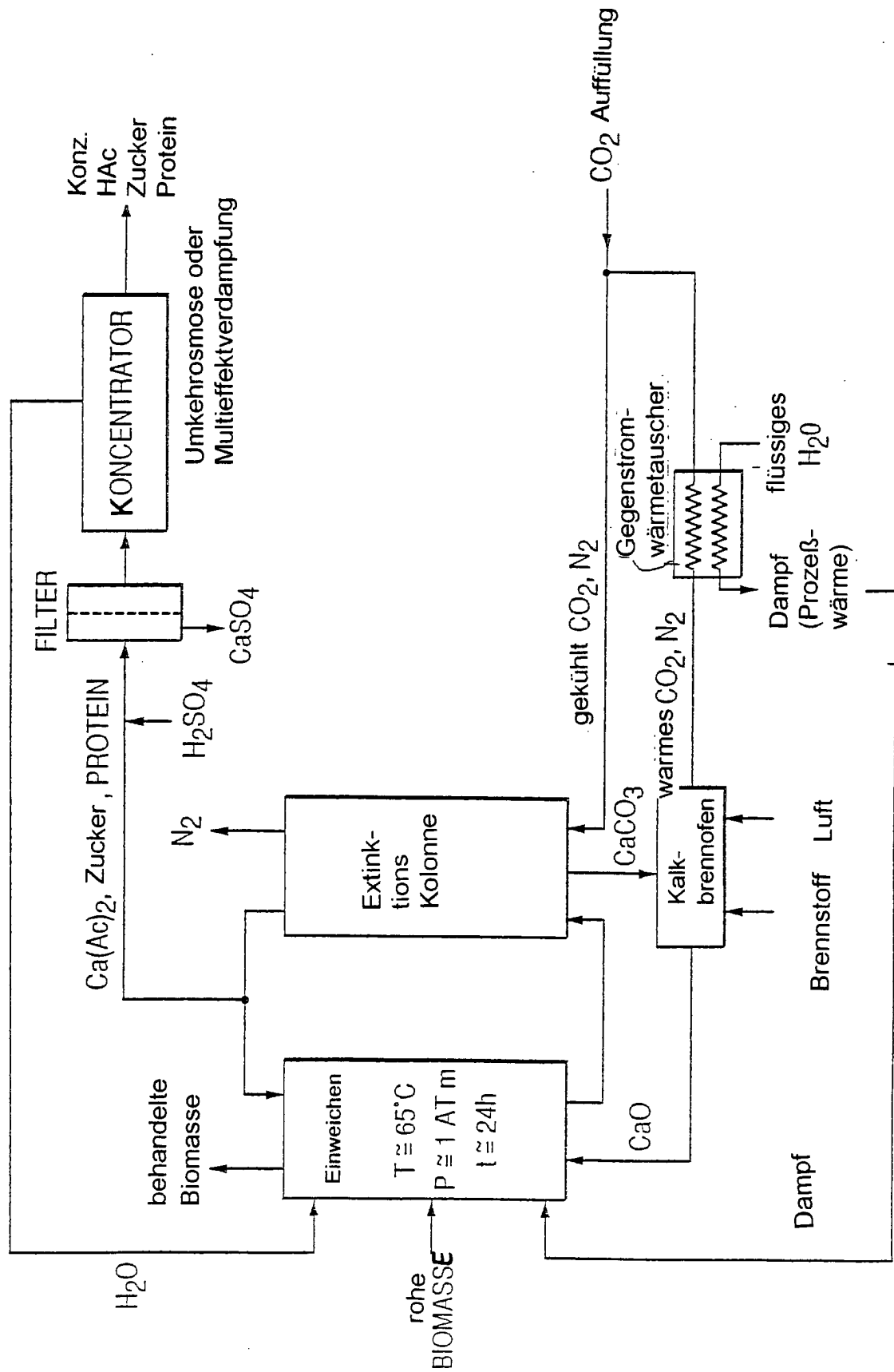
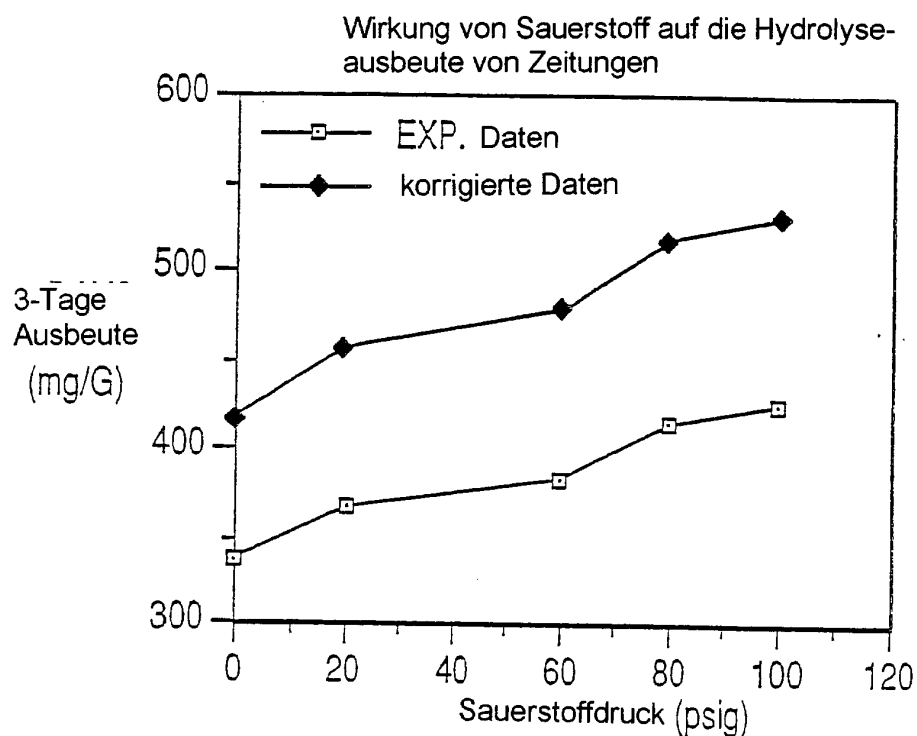


FIG. 10**FIG. 11**