



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) 
1-0022513

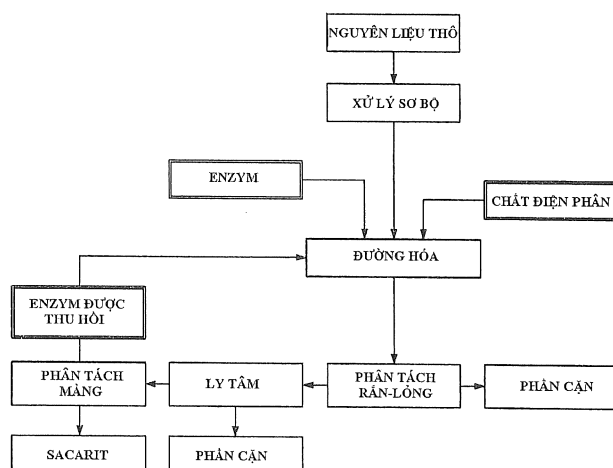
(51)⁷ C12P 19/14, B09B 3/00

(13) B

- (21) 1-2013-00647 (22) 31.08.2011
(86) PCT/JP2011/069743 31.08.2011 (87) WO2012/029842 08.03.2012
(30) 2010-193310 31.08.2010 JP
2010-254441 15.11.2010 JP
2010-274235 09.12.2010 JP
2011-075772 30.03.2011 JP
2011-107820 13.05.2011 JP
2011-123976 02.06.2011 JP
(45) 25.12.2019 381 (43) 27.05.2013 302
(73) Oji Holdings Corporation (JP)
7-5, Ginza 4-chome, Chuo-ku, Tokyo 104-0061 Japan
(72) ISHIKAWA Kotaro (JP), FURUJYO Atsushi (JP), CHAO Yaping (TW), TOKUNO
Hisako (JP), SUGIURA Jun (JP), MATSUMURA Motohiro (JP)
(74) Công ty TNHH Tâm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ ĐƯỜNG HÓA NGUYÊN LIỆU THÔ GỐC
LIGNOXENLULOZA NHỜ ENZYM

(57) Sáng chế đề xuất phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym, trong đó nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được cho qua bước xử lý sơ bộ để tạo ra nguyên liệu thô thích hợp cho phản ứng đường hóa nhờ enzym, được bổ sung cùng với chất điện phân chứa muối hòa tan được trong nước, vào nước chứa enzym đường hóa xenluloza; nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza dưới dạng hỗn dịch nguyên liệu thô mà độ dẫn điện của nó đã được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 5 mS/cm đến 25 mS/cm, được cho qua xử lý đường hóa nhờ enzym thông qua phản ứng đường hóa nhờ enzym sản phẩm phản ứng và dung dịch chứa enzym được tách riêng và được thu hồi từ hỗn dịch đã được xử lý sau sự xử lý đường hóa nhờ enzym; và dung dịch chứa enzym đã được thu hồi được tái quay vòng để làm enzym cho quy trình xử lý đường hóa nhờ enzym.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym hoặc phương pháp sản xuất etanol từ nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza, cả hai phương pháp này đều có bước xử lý sơ bộ là cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza qua sự xử lý chuyển hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza này thành nguyên liệu thô thích hợp cho phản ứng đường hóa nhờ enzym; và bước đường hóa nhờ enzym là đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được xử lý sơ bộ bằng enzym. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến phương pháp xử lý đường hóa sinh khối gốc lignoxenluloza nhờ enzym, phương pháp này bao gồm phản ứng đường hóa sinh khối chứa lignoxenluloza đã được cho qua xử lý thích hợp cho việc đường hóa, sử dụng nhóm các enzym bao gồm enzym phân giải xenluloza hoặc enzym phân giải hemixenluloza, và phương pháp này có khả năng thu hồi nhóm các enzym đã được sử dụng với tỷ lệ thu hồi cao và tái sinh nhóm các enzym này trong thời gian dài; hoặc phương pháp sản xuất etanol từ sinh khối chứa lignoxenluloza, phương pháp này có khả năng làm tăng hiệu suất etanol bằng cách thu hồi các xơ mịn vẫn còn trong hỗn dịch đã được xử lý sau xử lý đường hóa lên men song song, và lại cho các xơ mịn đã được thu hồi qua xử lý đường hóa hoặc xử lý đường hóa lên men song song.

Đơn này xin hưởng quyền ưu tiên từ đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2010-193310, nộp ngày 31 tháng 8 năm 2010; đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2010-254441, nộp ngày 15 tháng 11 năm 2010; đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2010-274235, nộp ngày 9 tháng 12 năm 2010; đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2011-075772, nộp ngày 30 tháng 3 năm 2011; đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2011-107820, nộp ngày 13 tháng 5 năm 2011; và đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2011-123976, nộp ngày 2 tháng 6 năm 2011, nội dung của các tài liệu này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Công nghệ sản xuất sacarit từ nguyên liệu thô lignoxenluloza đã được cho qua xử lý thích hợp cho việc đường hóa, là công nghệ có lợi cho việc hình thành xã hội định hướng tái tuần hoàn vì có thể sản xuất các rượu mà có thể được dùng làm nhiên liệu thay thế xăng, hoặc nguyên liệu hóa học thô như axit succinic và axit lactic mà có thể được dùng làm nguyên liệu thô cho chất dẻo bằng cách sử dụng sacarit làm cơ chất lên men cho vi sinh vật.

Phương pháp sản xuất monosacarit hoặc oligosacarit mà có thể được dùng làm cơ chất lên men từ polysacarit trong sinh khối nguồn gốc thực vật, có thể được phân loại chung thành hai loại. Một loại là phương pháp đường hóa axit, thủy phân polysacarit sử dụng axit vô cơ, và loại khác là phương pháp đường hóa nhờ enzym, thủy phân polysacarit sử dụng enzym hoặc vi sinh vật sản xuất enzym này.

Phương pháp đường hóa axit về mặt kỹ thuật có tính hoàn toàn hơn so với phương pháp đường hóa nhờ enzym. Tuy nhiên, trong trường hợp của phương pháp sử dụng sinh khối gốc lignoxenluloza làm nguyên liệu thô, hiệu suất sacarit là thấp so với phương pháp sử dụng tinh bột hoặc rỉ đường làm nguyên liệu thô, và ngoài ra, do cần có phương tiện để xử lý chất thải axit thải ra từ các quy trình xử lý, hoặc phương tiện kích thước lớn có khả năng chịu đựng sự ăn mòn do axit gây ra, nên làm tăng giá thành sản phẩm, điều này gây ra vấn đề nghiêm trọng đối với ứng dụng thực tiễn.

Mặt khác, đối với phương pháp đường hóa nhờ enzym, do sự giảm giá thành của các enzym trong những năm gần đây và sự phát triển của công nghệ, tổng chi phí kể cả các bước sau xử lý trở nên gần hơn với chi phí của phương pháp đường hóa axit. Tuy nhiên, vì giá thành của các enzym chiếm tỷ lệ cao trong tổng chi phí của phương pháp đường hóa nhờ enzym vẫn cao, nên để phương pháp đường hóa nhờ enzym có khả năng ứng dụng trong thực tiễn, thì điều quan trọng là cần phải làm giảm thêm nữa chi phí đối với các enzym.

Để làm công nghệ làm giảm chi phí của phương pháp đường hóa nhờ enzym, có thể xem xét phát triển phương pháp ể xử lý sơ bộ mà tạo điều kiện thuận lợi cho việc tiếp cận của enzym với các sợi xenluloza, hoặc phát triển

phương pháp đường hóa một cách hiệu quả xenluloza tinh thể, và phát triển phương pháp để thu hồi hiệu quả và tái sử dụng các enzym.

Nguyên liệu lignoxenluloza chưa được loại bỏ lignin không dễ bị enzym phân hủy so với nguyên liệu lignoxenluloza đã được loại bỏ lignin, và không được đường hóa, vì vậy nguyên liệu lignoxenluloza chưa được loại bỏ lignin vẫn còn dưới dạng phần cặn trong chất lỏng đường hóa cùng với các tạp chất như nhựa và kim loại. Nhìn chung, phần cặn này được tách bằng cách sàng lọc, ly tâm hoặc các phương pháp tương tự và được bỏ đi. Vì phần cặn này chứa lượng lớn các enzym đã được hấp phụ, mà chiếm tỷ lệ lớn đối với chi phí trong phương pháp đường hóa nhờ enzym, có vấn đề là nếu phần cặn này được tách ra từ chất lỏng phản ứng trực tiếp bị bỏ đi, các enzym rất đắt tiền cũng bị bỏ đi. Tức là, mong muốn thu hồi và tận dụng một cách hiệu quả phần cặn nhằm mục đích làm giảm chi phí của phương pháp đường hóa nhờ enzym. Đối với công nghệ tái sử dụng phần cặn được thu hồi trong phương pháp đường hóa nhờ enzym, đã có các báo cáo về phương pháp đốt cháy phần cặn và thu năng lượng nhiệt (PTL 5), phương pháp cho phần cặn qua sự khí hóa thủy nhiệt, và tổng hợp ethanol từ khí tổng hợp đã được sản xuất bằng cách sử dụng chất xúc tác tổng hợp ethanol (PTL 6), phương pháp sử dụng phần cặn làm nhiên liệu hoặc phân bón (PTL 7), và phương pháp sử dụng phần cặn làm năng lượng nhiệt (PTL 8). Tuy nhiên, vì các phương pháp này làm tăng chi phí nhiều do bổ sung thêm các quy trình xử lý, nên trong trường hợp thiết kế phương tiện hữu ích về mặt thực tiễn, không thể nói rằng các phương pháp này thỏa mãn để làm phương pháp giải quyết vấn đề giảm chi phí.

Để làm phương pháp thu hồi các enzym trong phần cặn như được mô tả trên đây, phương pháp rửa phần cặn có thể được xem xét. Tuy nhiên, vì các enzym liên kết bền vững với xenluloza thông qua miền liên kết xenluloza (CBD) hấp phụ một cách đặc hiệu với xenluloza, mà được mang bởi các enzym trong phân tử, nên khó thu hồi một cách hiệu quả các enzym đã được hấp phụ với xenluloza, bằng việc rửa đơn giản bằng nước.

Do vậy, nhằm mục đích cải thiện tỷ lệ thu hồi các enzym, phương pháp xử lý các enzym bằng cách bổ sung chất hoạt động bề mặt (xem PTL 1), và các

phương pháp tương tự đã được đề xuất. Tuy nhiên, ngay cả trong phương pháp xử lý bằng chất hoạt động bề mặt, không thể nói rằng tỷ lệ thu hồi các enzym là thỏa mãn, và phương pháp này không thực tế từ quan điểm rằng có mối lo âu đối với sự khử hoạt tính các enzym do bổ sung các hóa chất, sự tăng chi phí do bổ sung thêm các quy trình xử lý, và các tác động bất lợi đến các vi sinh vật trong bước lên men tiếp theo.

Để làm phương pháp thu hồi các enzym từ dung dịch sacarit, phương pháp sử dụng siêu lọc (xem PTL 2), phương pháp hấp phụ và thu hồi các enzym bằng cách bổ sung lại xenluloza vào dung dịch sacarit (xem PTL 3), và các phương pháp tương tự đã được đề xuất. Tuy nhiên, phương pháp siêu lọc có vấn đề là các tạp chất mịn làm tắc màng lọc, và do đó không thể thu được tốc độ xử lý đủ và tỷ lệ thu hồi enzym đủ, và khó đạt được sự thu hồi enzym đủ bằng phương pháp thu hồi bằng cách bổ sung xenluloza.

Phương pháp tái sử dụng phần cặn lignoxenluloza mà các enzym được hấp phụ vào, trong mẻ đường hóa bằng enzym tiếp theo, mà không đi qua bước tháo tách các enzym đã được hấp phụ đã được đề xuất (PTL 4).

Trong phương pháp này, vì sự tích tụ của phần cặn là không thể tránh khỏi, sự giảm hiệu quả của phản ứng là điều cần phải lo lắng. Ngoài ra, liên quan tới các enzym có CBD, như CBH (xenlobiohydrazin), việc tái quay vòng các enzym có thể đạt được bằng cách tái xử lý phần cặn lignoxenluloza trong mẻ tiếp theo; tuy nhiên, vì có khả năng trong đó β -glucosidaza và các enzym tương tự được giải phóng trong dịch nổi trên bề mặt, nên khó tái quay vòng tất cả các xenluloza đã được bổ sung.

Ngoài ra, trong phương pháp này, vì bản thân phần cặn chưa bị phân hủy ở trạng thái không dễ bị phân hủy ngay cả nếu được trộn lại với dung dịch enzym, mong muốn đưa phần cặn chưa bị phân hủy vào trạng thái có thể đường hóa một cách dễ dàng. Các tác giả sáng chế của đơn sáng chế này đã thấy rằng khi phần cặn chưa bị phân hủy thu hồi được bằng sự phân tách rắn-lỏng được xử lý bằng cơ học và lại được cho qua sự đường hóa và lên men, thì hiệu suất etanol được tăng lên (PTL 9). Tuy nhiên, phương pháp này có vấn đề là phần cặn mà đã được dùng làm nguyên liệu thô là phần cặn được thu hồi bằng cách

sử dụng lưới sàng có cỡ sàng 420 (38- μ m) và bao gồm các xơ có khoảng kích cỡ rộng. Các xơ có kích thước lớn với lượng lớn của lignin đã được hấp phụ không bị phân hủy một cách dễ dàng bởi các enzym, và do đó không được đường hóa một cách đầy đủ nếu không được cho qua bước xử lý sơ bộ (xử lý cơ học hoặc các biện pháp xử lý tương tự). Nếu chỉ có các xơ có kích thước nhỏ với lượng nhỏ lignin đã được hấp phụ có thể được thu hồi một cách có chọn lọc và lại được đường hóa nhờ enzym làm nguyên liệu thô mà không được cho qua bước xử lý sơ bộ, việc tăng cường hiệu suất etanol với hiệu quả cao có thể được mong đợi.

Để làm phương pháp làm giảm chi phí đối với các enzym, phương pháp tái quay vòng các enzym đã được báo cáo. Theo phương pháp của Scott, C.D. và các đồng nghiệp (Non-PTL 1), hệ liên tục được bao gồm, hệ này được trang bị dây chuyền tái quay vòng có thiết bị nghiền dựa trên bơm ly tâm tốc độ cao mà, trong thùng phản ứng chính thủy phân nhờ enzym nguyên liệu thô là giấy cũ bằng cách bổ sung lượng lớn enzym (80 đến 160 đơn vị so với 1 g cơ chất về hoạt tính phân hủy giấy lọc), loại bỏ các thành phần glucoza và xenlobioza đã được tạo ra bằng lực cắt cao trên bề mặt của giấy cũ chưa được phản ứng trong sản phẩm thủy phân bằng enzym, và nhờ đó luôn luôn làm lộ các bề mặt sợi xenluloza mới; thiết bị phân tách màng mà phân tách nguyên liệu thô chưa được phản ứng và sản phẩm thủy phân khỏi chất lỏng xử lý đến từ thiết bị nghiền, và tuần hoàn chỉ nguyên liệu thô chưa được phản ứng đến thùng phản ứng chính; và thiết bị lọc phân tách các enzym và glucoza và xenlobioza đã được tạo ra khỏi sản phẩm thủy phân đến từ thiết bị phân tách màng, và tuần hoàn chỉ các enzym vào thùng phản ứng chính, và chi phí được dự đoán trước. Theo hệ này, tỷ lệ đường hóa là 100% trong 25 giờ, và tỷ lệ còn lại của các enzym là 95% hoặc cao hơn trong 24 giờ. Ngoài ra, được mô tả rằng các enzym hấp phụ với phân cặn và được loại bỏ, chức năng hấp phụ của các enzym với phân cặn có thể được làm giảm bằng cách làm tăng độ pH đến 5 đến 7, và có báo cáo rằng chức năng hấp phụ của các enzym có thể được làm giảm bằng cách hạ thấp nhiệt độ xuống 5°C.

Để làm phương pháp thu hồi và tái sử dụng các enzym, phương pháp đã

được báo cáo trong đó gỗ bulô đã được xử lý phun hơi nước được bổ sung vào thùng đường hóa ở nồng độ bằng 5%, 20.000 đơn vị xenlulaza được bổ sung vào đó, dung dịch sacarit và dung dịch enzym được tách bằng siêu lọc, và trong khi enzym được thu hồi và được tái sử dụng, 630 g monosacarit thu được từ 2 kg gỗ bulô trong 8 ngày. Xét thấy rằng lượng enzym được sử dụng có thể tiết kiệm được 20% bởi phương pháp này (Non-PTL 2).

Danh mục tài liệu trích dẫn

Tài liệu sáng chế

[0012]

[PTL 1] JP-A-63-87994

[PTL 2] JP-A-61-234790

[PTL 3] JP-A-55-144885

[PTL 4] JP-A-2010-98951

[PTL 5] Patent Nhật Bản số 4447148

[PTL 6] JP-A-2005-168335

[PTL 7] JP-A-2008-54676

[PTL 8] JP-A-2009-106932

[PTL 9] Đơn yêu cầu cấp patent Nhật Bản số 2009-190862

Tài liệu không phải tài liệu sáng chế

[0013]

[NPL 1] Scott, C.D., Rothrock, D.S., Appl. Biochem. Biotechnol., 45/46, pp. 641-653 (1994)

[NPL 2] Ishihara, M., et al., Biotechnol. Bioeng., 37, 948-954 (1991)

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Công nghệ sản xuất sacarit từ sinh khối của lignoxenluloza và các sinh khối tương tự là công nghệ có khả năng cung cấp mới nhiên liệu hoặc nguyên liệu thô dẻo mà cho đến nay vẫn phụ thuộc vào nguồn hóa thạch, và là công nghệ đặc biệt hữu ích cho việc thiết lập xã hội định hướng tái tuần hoàn. Như được mô tả trên đây, các công nghệ khác nhau đã được phát triển cho đến nay,

nhưng có một vấn đề là các công nghệ này không kinh tế, chủ yếu là vì chi phí cao của các enzym cần trong quá trình đường hóa.

Như được mô tả trên đây, đã có nhiều nỗ lực để làm giảm lượng enzym được sử dụng bằng cách thu hồi và tái sử dụng các enzym đã được sử dụng trong quá trình đường hóa. Tuy nhiên, vì các enzym hấp phụ mạnh với phần cặn được tạo ra tại thời điểm đường hóa, tỷ lệ thu hồi bị giảm, và không thể giải quyết được vấn đề này. Như vậy, sự hấp phụ mạnh của các enzym với phần cặn được tạo ra tại thời điểm đường hóa nhờ enzym là vấn đề lớn nhất tại thời điểm thu hồi enzym, và nếu có thể giải quyết được vấn đề này, thì có thể tăng cường khả năng tái quay vòng của các enzym, làm giảm chi phí, và có thể cải thiện nhiều hiệu quả kinh tế của phương pháp xử lý đường hóa nhờ enzym. Do đó, mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp có thể sử dụng một cách hiệu quả, mà không lãng phí, các enzym được đưa vào để xử lý đường hóa nguyên liệu lignoxenluloza nhờ enzym, và đề xuất phương pháp sản xuất etanol với hiệu suất etanol cao trong quy trình sản xuất etanol sử dụng lignoxenluloza làm nguyên liệu thô.

Biện pháp giải quyết vấn đề

Để giải quyết các vấn đề được mô tả trên đây, các tác giả sáng chế đã tiến hành nghiên cứu phương pháp làm giảm chi phí, đối với quy trình tiến hành liên tục phản ứng đường hóa nhờ enzym, bằng cách tái sử dụng, với tỷ lệ thu hồi được tăng lên, enzym đắt tiền và chiếm tỷ lệ rất lớn của tổng chi phí, và kết quả là, các tác giả sáng chế đã thu được sáng chế sau. Sáng chế này dựa trên ý tưởng sử dụng biện pháp để ngăn chặn sự hấp phụ của các enzym với nguyên liệu thô lignoxenluloza hoặc phần cặn phản ứng trong chất lỏng của phản ứng đường hóa nhờ enzym, là biện pháp tạo điều kiện thuận lợi việc phân tách các enzym khỏi chất lỏng phản ứng sau khi phản ứng đường hóa nhờ enzym được tạo điều kiện thuận lợi, và cũng ngăn ngừa sự tháo các enzym ra khỏi hệ thống cùng với phần cặn bỏ đi. Ngoài ra, các tác giả sáng chế đã thấy rằng khi chỉ có các xơ mịn mà được đường hóa một cách dễ dàng từ phần cặn được bao gồm trong chất lỏng nuôi cấy của quy trình đường hóa lên men song song được thu hồi, và sự đường hóa hoặc đường hóa lên men song song được tiến hành bằng cách sử

dụng các xơ mịn đã được thu hồi làm nguyên liệu thô, hiệu suất etanol được tăng cường, và lượng phần cặn tháo ra trong quy trình được làm giảm. Do vậy, các tác giả sáng chế đã hoàn thành sáng chế như được mô tả dưới đây.

Sáng chế dựa trên các phát hiện đã được mô tả trên đây, và bao gồm các phương án sau.

(1) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym, phương pháp này bao gồm bổ sung nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được cho qua bước xử lý sơ bộ để tạo ra nguyên liệu thô thích hợp cho phản ứng đường hóa nhờ enzym, cùng với chất điện phân chứa muối hòa tan được trong nước, vào nước chứa enzym đường hóa xenluloza; cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza dưới dạng hỗn dịch nguyên liệu thô mà độ dẫn điện của nó đã được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 5 mS/cm đến 25 mS/cm, qua xử lý đường hóa nhờ enzym thông qua phản ứng đường hóa nhờ enzym; phân tách và thu hồi sản phẩm phản ứng và dung dịch chứa enzym ra khỏi hỗn dịch đã được xử lý sau sự xử lý đường hóa nhờ enzym; và tái quay vòng dung dịch chứa enzym đã được thu hồi để làm enzym cho quy trình xử lý đường hóa nhờ enzym.

(2) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym như được mô tả trong mục (1), trong đó bước xử lý sơ bộ để tạo ra nguyên liệu thô thích hợp cho phản ứng đường hóa nhờ enzym là bước xử lý sơ bộ bao gồm xử lý hóa học để ngâm nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza trong dung dịch chứa hóa chất kiềm được chọn từ natri hydroxit, kali hydroxit, canxi hydroxit, natri cacbonat và natri hydro cacbonat, hoặc hỗn hợp của chúng, hoặc hỗn hợp của natri sulfit và kiềm này.

(3) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym như được mô tả trong mục (1) hoặc (2), trong đó nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza là cặn bã rừng.

(4) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym như được mô tả trong mục (1) hoặc (2), trong đó nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza là vỏ cây.

(5) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza

nhờ enzym như được mô tả trong mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (4), trong đó muối hòa tan được trong nước là ít nhất một muối hòa tan được trong nước được chọn từ muối kim loại kiềm và muối kim loại kiềm thổ.

(6) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym như được mô tả trong mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (5), trong đó muối hòa tan được trong nước là muối được chọn từ nhóm bao gồm halogenua, sulfat, sulfit, thiosulfat, cacbonat, hydro cacbonat, phosphat, dihydro phosphat, hydro điphosphat, axetat, và xitrat của kim loại kiềm và kim loại kiềm thổ.

(7) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym như được mô tả trong mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (6), trong đó phương pháp xử lý đường hóa nhờ enzym là phương pháp cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza qua bước xử lý đường hóa nhờ enzym theo một loạt các quy trình bao gồm bước xử lý sơ bộ là cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza qua xử lý để tạo ra nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza thích hợp cho phản ứng đường hóa nhờ enzym; bước xử lý đường hóa nhờ enzym là bổ sung nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được xử lý sơ bộ, cùng với chất điện phân chứa muối hòa tan được trong nước, vào nước chứa enzym đường hóa xenluloza, và xử lý nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza dưới dạng hỗn dịch nguyên liệu thô mà độ dẫn điện của nó đã được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 5 mS/cm đến 25 mS/cm, thông qua phản ứng đường hóa nhờ enzym; bước phân tách rắn-lỏng là loại bỏ phần cặn rắn ra khỏi hỗn dịch đã được xử lý từ bước xử lý đường hóa nhờ enzym; bước ly tâm là ly tâm phân đoạn chất lỏng từ bước phân tách rắn-lỏng, và nhờ đó thu được phân đoạn chất lỏng chứa các enzym và sacarit và có tất cả phần cặn còn lại được loại bỏ; bước phân tách màng là tách phân đoạn chất lỏng từ bước ly tâm thành dung dịch chứa enzym và dung dịch chứa sacarit đã được tạo ra; và bước tái quay vòng enzym là tái quay vòng và cung cấp dung dịch chứa enzym thu được từ bước phân tách màng vào bước xử lý đường hóa nhờ enzym để làm nguồn enzym.

(8) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym như được mô tả trong mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (7),

trong đó bước xử lý đường hóa nhờ enzym là bước xử lý đường hóa lên men song song gồm tiến hành xử lý dựa trên phản ứng đường hóa nhờ enzym nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza và xử lý lên men sacarit đã được tạo ra bởi vi sinh vật để lên men kết hợp bằng cách sử dụng chế phẩm xenlulaza và vi sinh vật để lên men sử dụng sacarit làm cơ chất lên men (= nguyên liệu thô) kết hợp, và nhờ đó tạo ra sản phẩm lên men cùng với sacarit.

(9) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym như được mô tả trong mục (8), trong đó phương pháp đường hóa nhờ enzym là phương pháp cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza qua xử lý đường hóa lên men song song theo một loạt các quy trình bao gồm bước xử lý sơ bộ là cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza qua xử lý để tạo ra nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza thích hợp cho phản ứng đường hóa nhờ enzym; bước xử lý đường hóa lên men song song là bổ sung nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được xử lý sơ bộ, cùng với vi sinh vật để lên men mà sử dụng sacarit làm cơ chất lên men, và với chất điện phân chứa muối hòa tan được trong nước, vào nước chứa enzym đường hóa xenluloza, và cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza dưới dạng hỗn dịch nguyên liệu thô mà độ dẫn điện của nó đã được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 5 mS/cm đến 25 mS/cm, qua cả xử lý đường hóa bằng con đường lên men và xử lý lên men sử dụng sacarit đã được tạo ra để làm cơ chất; bước phân tách rắn-lỏng là loại bỏ phần cặn rắn ra khỏi hỗn dịch đã được xử lý từ bước xử lý đường hóa nhờ enzym; bước chưng cất là phân tách và thu hồi sản phẩm lên men từ phân đoạn chất lỏng từ bước phân tách rắn-lỏng thông qua chưng cất; bước ly tâm là ly tâm phần chưng cất còn dư từ bước chưng cất để loại bỏ bất kỳ phần cặn còn lại, và nhờ đó thu được phân đoạn chất lỏng chứa các enzym và sacarit; bước phân tách màng là phân tách phân đoạn chất lỏng từ bước ly tâm thành dung dịch chứa enzym và dung dịch chứa sacarit; và bước tái quay vòng enzym là tái quay vòng và cung cấp dung dịch chứa enzym thu được từ bước phân tách màng vào bước xử lý đường hóa nhờ enzym để làm nguồn enzym.

(10) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym như được mô tả trong mục (9), trong đó dung dịch chứa sacarit được phân tách và được thu hồi từ bước phân tách màng là chất lỏng chứa sacarit mà

bao gồm oligosacarit làm các thành phần chính.

(11) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym như được mô tả trong mục (9), trong đó phân đoạn chất lỏng từ bước ly tâm được tái quay vòng và được cung cấp cho bước xử lý đường hóa nhờ enzym để làm dung dịch chứa enzym chứa sacarit, mà không đi qua bước phân tách màng.

(12) Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym như được mô tả trong mục (8), trong đó phương pháp xử lý đường hóa nhờ enzym này là phương pháp cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza qua xử lý đường hóa lên men song song theo một loạt các quy trình bao gồm bước xử lý sơ bộ là cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza qua xử lý để tạo ra nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza thích hợp cho phản ứng đường hóa nhờ enzym; bước xử lý đường hóa lên men song song là bổ sung nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được xử lý sơ bộ, cùng với vi sinh vật để lên men mà sử dụng sacarit làm cơ chất lên men, và với chất điện phân chứa muối hòa tan được trong nước, vào nước chứa enzym đường hóa xenluloza, và cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza dưới dạng hỗn dịch nguyên liệu thô mà độ dẫn điện của nó đã được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 5 mS/cm đến 25 mS/cm, qua cả xử lý đường hóa nhờ enzym gồm xử lý nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza thông qua phản ứng đường hóa nhờ enzym và xử lý lên men gồm sử dụng sacarit đã được tạo ra để làm cơ chất; bước phân tách rắn-lỏng là phân tách hỗn dịch đã được xử lý từ bước xử lý đường hóa lên men song song thành phần cặn và phân đoạn chất lỏng sử dụng máy ép kiểu vít có cỡ lưới nằm trong khoảng từ 1,0 mm đến 2,0 mm; bước xử lý sàng là phân tách phân đoạn chất lỏng từ bước phân tách rắn-lỏng thành các xơ mịn và phân đoạn chất lỏng thông qua xử lý sàng sử dụng sàng có cỡ sàng từ 80 đến 600; bước chung cất là phân tách và thu hồi sản phẩm lên men từ phân đoạn chất lỏng thu được sau bước xử lý sàng bằng cách loại bỏ các xơ mịn, thông qua chung cất; bước ly tâm là ly tâm phần chung cất còn dư từ bước chung cất để loại bỏ bất kỳ phần cặn còn lại, và nhờ đó thu được phân đoạn chất lỏng chứa các enzym và sacarit; và bước tái quay vòng và cung cấp phân đoạn chất lỏng từ bước ly tâm cho bước xử lý đường hóa nhờ enzym để làm dung dịch chứa enzym chứa sacarit, mà không đi qua bước phân tách màng.

Hiệu quả có lợi của sáng chế

Theo phương pháp xử lý đường hóa nhờ enzym theo sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp xử lý đường hóa liên tục nhờ enzym sinh khối gốc lignoxenluloza, có sự tồn thất enzym rất ít và hiệu quả kinh tế cao, do sự hấp phụ của các enzym đường hóa với phần chưa được phản ứng hoặc phần cản phản ứng của nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza bị ngăn chặn, và sự phân tách và thu hồi các enzym đường hóa từ hỗn dịch đã được xử lý bằng enzym được tạo điều kiện thuận lợi.

Ngoài ra, theo sáng chế, hiệu suất etanol có thể được tăng lên bằng cách thu hồi một cách có chọn lọc các xơ mịn được bao gồm trong chất lỏng nuôi cấy thu được sau sự đường hóa lên men song song sử dụng lignoxenluloza làm nguyên liệu thô, và lại cho các xơ mịn đã được thu hồi để làm nguyên liệu thô qua đường hóa hoặc đường hóa lên men song song.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 là biểu đồ dòng quy trình thể hiện phương án của phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym theo sáng chế.

Fig. 2 là biểu đồ dòng quy trình thể hiện quy trình xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym theo sáng chế, được thực hiện dưới dạng quy trình xử lý đường hóa lên men song song gồm thực hiện xử lý đường hóa bằng enzym kết hợp với xử lý lên men gồm sử dụng sacarit đã được tạo ra làm nguyên liệu thô.

Fig. 3 là biểu đồ thể hiện dòng quy trình sản xuất của Ví dụ B1.

Fig. 4 là biểu đồ thể hiện dòng quy trình sản xuất của Ví dụ B2.

Fig. 5 là biểu đồ thể hiện dòng quy trình sản xuất của Ví dụ so sánh B1.

Fig. 6 là biểu đồ thể hiện dòng quy trình sản xuất của Ví dụ B5.

Fig. 7 là biểu đồ thể hiện dòng quy trình sản xuất của Ví dụ B6.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn.

<Nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza>

Ví dụ về nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza được dùng làm nguyên liệu thô cho phương pháp theo sáng chế bao gồm, dưới dạng nguyên liệu có chất gỗ, là vỏ bào hoặc vỏ cây gỗ để sản xuất giấy, cặn bã rừng, gỗ từ quá trình làm quang rừng, và các nguyên liệu tương tự; mùn cưa được tạo ra từ nhà máy cưa và các nguyên liệu tương tự; các cành và lá cây được cắt xén, và các nguyên liệu rác thải xây dựng. Ví dụ về nguyên liệu dạng thảo mộc bao gồm các rác thải nông nghiệp như cây dâm bụt, rơm lúa, rơm lúa mì và bã mía; cặn bã và rác thải của cây trồng công nghiệp như cây trồng lấy dầu và cao su (ví dụ, EFB: Chùm quả rỗng); và sinh khối gốc lignoxenluloza của cây trồng lấy năng lượng dạng thảo mộc như cỏ *Erianthus*, *Miscanthus*, và *Napier*. Ngoài ra, để làm nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza theo sáng chế, giấy có nguồn gốc từ gỗ, giấy cũ, bột giấy, bùn cặn bột giấy, và các nguyên liệu tương tự cũng có thể được sử dụng.

Trong số các nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza có chất gỗ như được mô tả trên đây, vỏ cây về cơ bản có ứng dụng hiệu quả hiện nay, lượng lớn vỏ cây có chất lượng đồng đều là có sẵn từ nhà máy cưa hoặc nhà máy bào, và các thành phần mềm và tan được có mặt với tỷ lệ lớn trong phần thân của gỗ. Do vậy, vỏ cây đặc biệt được ưu tiên làm nguyên liệu thô để xử lý đường hóa hoặc xử lý đường hóa lên men song song.

Ví dụ, vỏ cây thuộc chi *Eucalyptus* hoặc chi *Acacia*, mà thường được sử dụng cho nguyên liệu thô sản xuất giấy, là có sẵn với lượng lớn theo cách ổn định từ nhà máy cưa hoặc nhà máy bào cho nguyên liệu thô sản xuất giấy, và do đó, vỏ cây là đặc biệt thích hợp để sử dụng.

<Xử lý sơ bộ để tạo ra nguyên liệu thô thích hợp cho xử lý đường hóa nhờ enzym >

Việc xử lý sơ bộ để tạo ra nguyên liệu thô thích hợp cho xử lý đường hóa nhờ enzym theo sáng chế là xử lý mà nhờ đó việc xử lý sơ bộ sau được tiến hành trên nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza như được mô tả trên đây, và nhờ đó lignoxenluloza được đưa đến trạng thái có thể đường hóa được bằng enzym:

xử lý hóa học, xử lý thủy nhiệt, xử lý nước nóng có áp, xử lý thủy nhiệt

với cacbon đioxit được bổ sung, xử lý bằng hơi nước, xử lý cơ học như xử lý nghiền ướt, xử lý nghiền cơ học, và xử lý tạo thành sợi được cắt vụn, xử lý bằng axit sulfuric loãng, xử lý phun hơi nước, xử lý thổi amoniac, xử lý thổi cacbon đioxit, xử lý chiếu xạ siêu âm, xử lý chiếu xạ vi sóng, xử lý chiếu xạ chùm electron, xử lý chiếu xạ tia γ , xử lý siêu tới hạn, xử lý dưới tới hạn, xử lý dung môi hữu cơ, xử lý phân tách pha, xử lý nấm làm mục gỗ, xử lý hoạt hóa dung môi màu xanh lá cây, các xử lý khác nhau bằng chất xúc tác, xử lý phản ứng gốc, và xử lý oxy hóa bằng ozon.

Các cách xử lý này có thể được tiến hành riêng rẽ hoặc kết hợp nhiều cách xử lý.

Trong số đó, tốt hơn nếu cho sinh khối gốc lignoxenluloza qua một hoặc nhiều cách xử lý sơ bộ được chọn từ xử lý hóa học, xử lý nước nóng có áp, xử lý tạo thành sợi được cắt vụn, và xử lý nghiền cơ học.

Xử lý hóa học là xử lý ngâm nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza trong dung dịch nước chứa hóa chất như axit hoặc kiềm, và nhờ đó đưa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đến trạng thái thích hợp cho xử lý đường hóa nhờ enzym của bước tiếp theo.

Hóa chất và các chất tương tự được sử dụng trong xử lý hóa học không bị giới hạn một cách cụ thể, mà ví dụ, có thể là một hoặc nhiều chất được chọn từ hydroxit, sulfua như axit sulfuric và axit sulfuric loãng, cacbonat, sulfat và sulfit của kim loại kiềm và kim loại kiềm thổ. Xử lý kiềm đạt được bằng cách ngâm nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza trong dung dịch nước chứa một hoặc nhiều hóa chất được chọn từ natri hydroxit, canxi hydroxit, natri sulfua, natri cacbonat, canxi cacbonat và natri sulfit, là thích hợp để xử lý hóa học. Ngoài ra, xử lý hóa học dựa trên chất oxy hóa như ozon hoặc clo đioxit cũng có thể được tiến hành.

Thích hợp nếu tiến hành xử lý hóa học kết hợp với xử lý cơ học như xử lý tạo thành sợi được cắt vụn hoặc xử lý nghiền cơ học như được mô tả trên đây, để làm bước xử lý sau của các quy trình xử lý sơ bộ.

Lượng hóa chất bổ sung để sử dụng trong xử lý hóa học có thể được

điều chỉnh một cách tùy ý theo các trường hợp, nhưng từ quan điểm giảm chi phí hóa chất, và từ quan điểm ngăn ngừa sự giảm hiệu suất do sự rửa giải và phân rã quá mức của xenluloza, lượng này tốt hơn nếu bằng 50 phần theo khối lượng hoặc ít hơn tính theo 100 phần theo khối lượng của nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza khô. Thời gian ngâm trong dung dịch nước chứa hóa chất và nhiệt độ xử lý trong xử lý hóa học có thể được thiết lập một cách tùy ý theo nguyên liệu thô hoặc hóa chất được sử dụng, nhưng nhìn chung, xử lý hóa học có thể được tiến hành trong khoảng thời gian xử lý nằm trong khoảng từ 20 đến 90 phút và ở nhiệt độ xử lý nằm trong khoảng từ 80°C đến 200°C. Vì sự rửa giải thành chất lỏng phụ hoặc sự phân rã quá mức của xenluloza có thể xảy ra khi các điều kiện xử lý khắc nghiệt được áp dụng, tốt hơn nếu thiết lập thời gian xử lý ở 70 phút hoặc ít hơn và nhiệt độ xử lý ở 180°C hoặc thấp hơn. Tốt hơn nữa nếu, thời gian xử lý nằm trong khoảng từ 30 phút đến 1 giờ, và nhiệt độ xử lý nằm trong khoảng từ 80°C đến 130°C.

Để làm xử lý cơ học, biện pháp cơ học bất kỳ như cắt vụn, cắt và nghiền có thể được sử dụng, và lignoxenluloza nhờ đó được làm cho dễ được đường hóa bằng quy trình xử lý đường hóa lên men của bước tiếp theo. Không có giới hạn cụ thể về thiết bị máy móc được sử dụng, mà ví dụ, máy hủy giấy một vít, máy hủy giấy hai vít, máy nghiền búa, máy nghiền bột giấy, và máy nhào trộn có thể được sử dụng.

Đối với nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được cho qua bước xử lý sơ bộ để tạo ra nguyên liệu thô thích hợp cho xử lý dựa trên phản ứng đường hóa nhờ enzym, tốt hơn nếu tiến hành xử lý khử trùng trước khi nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza trong quá trình điều chế hỗn dịch nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza. Nếu vi khuẩn không mong muốn được đưa vào nguyên liệu thô sinh khối gốc lignoxenluloza, xảy ra vấn đề là vi khuẩn không mong muốn này sẽ tiêu thụ sacarit khi sự đường hóa bởi các enzym được tiến hành, và hiệu suất của sản phẩm bị giảm.

Việc xử lý khử trùng có thể được tiến hành bằng phương pháp cho nguyên liệu thô tiếp xúc với độ pH ở đó sự sinh trưởng của vi khuẩn gặp khó khăn, như độ pH axit hoặc độ pH kiềm, nhưng cũng có thể được tiến hành bằng

phương pháp xử lý nguyên liệu thô trong điều kiện nhiệt độ cao, hoặc có thể kết hợp cả hai phương pháp này. Đối với nguyên liệu thô sau xử lý axit hoặc kiềm, tốt hơn nếu điều chỉnh nguyên liệu thô đã được xử lý đến độ pH trung tính, hoặc đến độ pH thích hợp cho xử lý đường hóa hoặc xử lý đường hóa lên men, và sau đó sử dụng nó làm nguyên liệu thô. Ngoài ra, ngay cả trong trường hợp tiến hành khử trùng nhiệt độ cao, tốt hơn nếu làm nguội nguyên liệu thô đã được xử lý xuống nhiệt độ trong phòng hoặc xuống nhiệt độ thích hợp cho xử lý trong quy trình đường hóa lên men, và sau đó sử dụng nó làm nguyên liệu thô. Như vậy, khi nguyên liệu thô được đưa ra sau khi nhiệt độ hoặc pH được điều chỉnh, có thể ngăn các enzym không tiếp xúc với độ pH hoặc nhiệt độ khác với pH thích hợp hoặc nhiệt độ thích hợp, và không bị khử hoạt tính.

Nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được cho qua xử lý sơ bộ để tạo ra nguyên liệu thô thích hợp cho xử lý dựa trên phản ứng đường hóa nhờ enzym, được trộn tiếp với lượng nước thích hợp, enzym, và muối hòa tan được trong nước, và tùy ý với vi sinh vật cần cho lên men, như nấm men, và do đó, hỗn dịch nguyên liệu thô được điều chế. Hỗn dịch nguyên liệu thô này được cung cấp cho bước xử lý đường hóa nhờ enzym sau khi độ dẫn điện được điều chỉnh tới giá trị đã được xác định trước. Quy trình đại diện để tiến hành phương pháp xử lý đường hóa nhờ enzym được thể hiện trên Fig. 1.

<Xử lý đường hóa nhờ enzym >

Trong trường hợp của phương pháp xử lý đường hóa nhờ enzym theo quy trình của Fig. 1, trong bước xử lý đường hóa nhờ enzym được biểu thị là "Đường hóa" trên Fig. 1, hỗn dịch nguyên liệu thô đã được điều chế bằng cách bổ sung nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza được cung cấp từ bước xử lý sơ bộ được biểu thị là "Xử lý sơ bộ", enzym đường hóa, và muối hòa tan được trong nước để làm chất điện phân vào lượng nước thích hợp, được cho qua đường hóa nhờ enzym trong điều kiện khuấy. Nồng độ của nguyên liệu thô lignoxenluloza trong hỗn dịch nguyên liệu thô tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 1 % khối lượng đến 30 % khối lượng. Nếu nồng độ này nhỏ hơn 1 % khối lượng, thì nồng độ cuối cùng của sản phẩm là quá thấp, và xảy ra vấn đề là chi phí để cô sản phẩm tăng. Ngoài ra, khi nồng độ này lớn hơn 30 % khối lượng và nguyên liệu

thô được cô cao, sẽ khó khuấy nguyên liệu thô, và xảy ra vấn đề là hiệu suất bị làm giảm.

Độ dẫn điện của hỗn dịch nguyên liệu thô trong bước xử lý đường hóa nhờ enzym tốt hơn nếu được duy trì nằm trong khoảng từ 5 mS/cm đến 25 mS/cm.

Độ pH được chọn nằm trong khoảng từ 3,5 đến 10,0, trong đó enzym được sử dụng dường như không bị khử hoạt tính, nhưng tốt hơn nếu duy trì độ pH nằm trong khoảng từ 3,5 đến 7,5.

Độ pH ở bước đường hóa hoặc bước đường hóa lên men song song tốt hơn nếu được duy trì nằm trong khoảng từ 3,5 đến 10,0, và tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 4,0 đến 7,5.

Nhiệt độ để xử lý đường hóa nhờ enzym không bị giới hạn một cách cụ thể miễn là nhiệt độ này nằm trong khoảng nhiệt độ tối ưu của enzym, và nhiệt độ này nhìn chung nằm trong khoảng từ 25°C đến 50°C, và tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 30°C đến 40°C.

Ngoài ra, cách thức xảy ra phản ứng đường hóa nhờ enzym tốt hơn nếu là cách thức liên tục, nhưng cách thức bán liên tục hoặc cách thức theo mẻ cũng có thể được sử dụng.

Thời gian phản ứng có thể thay đổi theo nồng độ enzym, nhưng trong trường hợp cách thức theo mẻ, thời gian phản ứng thường nằm trong khoảng từ 10 đến 240 giờ, và tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 15 đến 160 giờ. Ngoài ra, trong trường hợp cách thức liên tục, thời gian lưu trung bình nhìn chung nằm trong khoảng từ 10 đến 150 giờ, và tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 15 đến 100 giờ.

Enzym phân giải xenluloza được sử dụng trong xử lý đường hóa nhờ enzym hoặc đường hóa lên men song song được chọn thích hợp từ nhóm các enzym được gọi chung là xenlulaza, mà có hoạt tính xenlobiohydrolaza, hoạt tính endoglucanaza, và hoạt tính beta-glucosidaza.

Đối với nhiều enzym phân giải xenluloza, các enzym có hoạt tính tương ứng có thể được bổ sung với lượng thích hợp; tuy nhiên, vì nhiều trong số các

chế phẩm xenlulaza có trên thị trường có nhiều hoạt tính xenlulaza khác nhau được mô tả trên đây cũng như hoạt tính hemixenlulaza, chế phẩm xenlulaza có trên thị trường cũng có thể được sử dụng.

Ví dụ về chế phẩm xenlulaza có trên thị trường bao gồm chế phẩm xenlulaza có nguồn gốc từ chi *Trichoderma*, chi *Acremonium*, chi *Aspergillus*, chi *Phanerochaete*, chi *Trametes*, chi *Humicola*, và chi *Bacillus*. Ví dụ về sản phẩm thương mại của chế phẩm xenlulaza này bao gồm Cellucine T2 (do HPI Co., Ltd. sản xuất), Meicelase do Meiji Seika Kaisha, Ltd. sản xuất), Novozyme 188 do Novozymes A/S sản xuất), Multifect CX10L do Genencor International, Inc. sản xuất), và GC220 do Genencor International, Inc. sản xuất) (tất cả đều là nhãn hiệu).

Lượng chế phẩm xenlulaza được sử dụng tính theo 100 phần theo khối lượng hàm lượng chất rắn của nguyên liệu thô tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 0,5 đến 100 phần theo khối lượng, và đặc biệt tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 1 đến 50 phần theo khối lượng.

Để làm muối hòa tan được trong nước được bổ sung làm chất điện phân, các muối được chọn từ muối axit, muối bazơ, muối trung hòa, và dung dịch đệm chứa muối như dung dịch đệm axetat và dung dịch đệm xitrat có thể được sử dụng riêng rẽ hoặc kết hợp. Nồng độ của muối hòa tan được trong nước có thể được điều chỉnh một cách tự do trong khoảng không có các tác động bất lợi đến phản ứng đường hóa nhờ enzym.

Trong số đó, muối hòa tan được trong nước được chọn từ muối kim loại kiềm và muối kim loại kiềm thổ là được ưu tiên. Ví dụ về các muối kim loại kiềm và muối kim loại kiềm thổ bao gồm muối tan được trong nước được chọn từ nhóm bao gồm halogenua, sulfat, sulfit, thiosulfat, cacbonat, hydro cacbonat, phosphat, dihydro phosphat, hydro diphosphat, axetat, và xitrat của kim loại kiềm và kim loại kiềm thổ.

Theo sáng chế, muối hòa tan được trong nước có thể được bổ sung để làm chất điện phân trong quy trình xử lý đường hóa nhờ enzym.

Trong quy trình xử lý đường hóa nhờ enzym, tốt hơn nếu bổ sung chất điện phân vào hỗn dịch nguyên liệu thô và duy trì độ dẫn điện của hỗn dịch

nguyên liệu thô nằm trong khoảng từ 5 mS/cm đến 25 mS/cm. Khi độ dẫn điện được duy trì nằm trong khoảng từ 5 mS/cm đến 25 mS/cm, sự hấp phụ của các enzym với các thành phần chưa được phản ứng hoặc phản cặn phản ứng của nguyên liệu thô lignoxenluloza, và do đó, tỷ lệ tái quay vòng của các enzym trong quy trình xử lý đường hóa nhờ enzym có thể được duy trì ở mức cao trong thời gian dài. Chất điện phân có thể được bổ sung mà không có giới hạn bất kỳ trong bước bất kỳ, với điều kiện là bước này nằm trong quy trình xử lý đường hóa nhờ enzym, và bước này cho phép thực hiện công đoạn bổ sung chất điện phân. Tốt hơn nếu bổ sung chất điện phân trong bước đường hóa lên men sơ cấp vì việc thực hiện này dễ dàng.

<Phân tách rắn-lỏng>

Hỗn dịch xử lý được tháo ra từ "bước đường hóa" được đưa vào quy trình phân tách rắn-lỏng có thiết bị lọc được biểu thị là "Phân tách rắn-lỏng" trên Fig. 1, và phần cặn rắn được loại bỏ. Phần cặn rắn được phân tách bằng thiết bị lọc trong quy trình phân tách rắn-lỏng bao gồm lignin, hemixenluloza và xenluloza. Tuy nhiên, xenluloza tồn tại ở trạng thái được bảo vệ bởi lignin và các chất tương tự, và ở trạng thái trong đó sự đường hóa tiếp không thể được xúc tiến, và do đó, xenluloza thường được tháo ra khỏi quy trình.

Ngoài ra, chất lỏng nuôi cấy tháo ra từ bước đường hóa lên men song song sơ cấp được chuyển đến bước phân tách rắn-lỏng và được phân tách thành phân đoạn chất lỏng (phần dịch lọc) và phần cặn (phần cặn sơ cấp). Để làm thiết bị thực hiện phân tách rắn-lỏng, máy ép kiểu vít có cỡ lưới nằm trong khoảng từ 1,0 mm đến 2,0 mm được sử dụng. Máy ép kiểu vít là thiết bị không dễ dàng bị tắc bởi các xơ do cấu trúc và có khả năng thực hiện một cách hiệu quả phân tách rắn-lỏng với lượng năng lượng tương đối nhỏ hơn. Để tăng cường hiệu quả phân tách rắn-lỏng, áp suất ngược có thể được áp dụng.

Phần cặn được tách riêng trong bước phân tách rắn-lỏng bao gồm lignin, hemixenluloza và xenluloza, và xenluloza có lignin và các chất tương tự được hấp thụ vào đó và do đó ở trong trạng thái trong đó sự đường hóa bởi các enzym là khó khăn. Phần cặn thu được sau bước phân tách rắn-lỏng bao gồm lượng lớn của các thành phần chứa xơ không bị phân hủy trong bước đường hóa lên men

song song sơ cấp, vì vậy khi phân cặn được cho qua xử lý cơ học hoặc xử lý hóa học, sự đường hóa được tạo điều kiện thuận lợi (PTL 6).

Phần dịch lọc (phân đoạn chất lỏng) được tách riêng trong bước phân tách rắn-lỏng được chuyển đến bước xử lý sàng tiếp theo.

<Bước ly tâm>

Phân đoạn chất lỏng đã được loại bỏ phần cặn rắn trong bước phân tách rắn-lỏng sau đó được đưa vào bước ly tâm được biểu thị là "Ly tâm", và phần cặn còn lại có mặt trong phân đoạn chất lỏng từ bước phân tách rắn được loại bỏ. Phân đoạn chất lỏng được đưa vào quy trình để thu hồi dung dịch sacarit và dung dịch enzym, được biểu thị là "Phân tách màng" trên Fig. 1.

Ngoài ra, phần chưng cất còn dư được chuyển đến bước ly tâm, trong đó phần cặn còn lại trong đó (phần cặn thứ cấp) được loại bỏ bằng cách ly tâm, và sau đó phân đoạn chất lỏng được tái tuần hoàn đến quy trình đường hóa lên men song song sơ cấp (xem Fig. 3). Phân đoạn chất lỏng chứa các enzym, và các enzym này được tái sử dụng trong bước đường hóa lên men song song sơ cấp. Trong lúc đó, phần cặn chứa lignin, vì vậy phần cặn này có thể được thu hồi làm nhiên liệu để đốt cháy và có thể được sử dụng làm năng lượng, hoặc lignin có thể được thu hồi và được sử dụng một cách hiệu quả.

<Bước phân tách màng>

Phân đoạn chất lỏng từ đó phần cặn còn lại được loại bỏ trong bước ly tâm là phân đoạn chất lỏng chứa các enzym và sacarit đã được tạo ra, và phân đoạn chất lỏng này được tách riêng thành dung dịch chứa enzym và dung dịch chứa sacarit trong bước phân tách màng được biểu thị là "Phân tách màng" trên Fig. 1 và được đưa vào thùng chứa dung dịch enzym được biểu thị là "enzym được thu hồi", trong đó dung dịch chứa enzym được tái quay vòng để làm nguồn enzym. Dung dịch chứa sacarit được lấy ra trực tiếp làm sản phẩm.

Vì dung dịch chứa sacarit chứa monosacarit như hexoza và pentoza, cũng như oligosacarit, nếu dự định sản xuất monosacarit, thì các oligosacarit có thể được tách riêng và được cung cấp cho "Bước đường hóa", để cho các oligosacarit này có thể được xử lý bằng enzym tiếp và được phân hủy thành

monosacarit.

<Bước xử lý đường hóa lên men song song sơ cấp >

Bước xử lý đường hóa nhờ enzym được biểu thị là "Bước đường hóa" trên Fig. 1 có thể được tiến hành dưới dạng quy trình xử lý đường hóa lên men song song, quy trình này đồng thời tiến hành xử lý lên men sử dụng vi sinh vật mà sử dụng sacarit được sản xuất bởi phản ứng đường hóa nhờ enzym làm nguyên liệu thô (cơ chất lên men). Trong trường hợp này, vi sinh vật để lên men mà sử dụng sacarit đã được tạo ra làm cơ chất lên men (nguyên liệu lên men thô) được bổ sung vào hỗn dịch nguyên liệu thô, cùng với enzym đường hóa. Quy trình tiêu biểu để tiến hành phương pháp xử lý đường hóa lên men song song được thể hiện trên Fig. 2.

Trên Fig. 2, nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được xử lý thành trạng thái thích hợp để xử lý đường hóa nhờ enzym trong bước xử lý sơ bộ được bổ sung vào lượng nước thích hợp cùng với muối hòa tan được trong nước làm chất điện phân, enzym phân giải xenluloza, và vi sinh vật để lên men như nấm men rượu, và được cho, dưới dạng hỗn dịch nguyên liệu thô có độ dẫn điện được điều chỉnh tới giá trị đã được xác định trước, qua cả xử lý đường hóa xenluloza bởi phản ứng đường hóa nhờ enzym và xử lý lên men như lên men rượu sử dụng sacarit đã được tạo ra để làm cơ chất lên men trong bước đường hóa lên men song song.

Nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được cho qua xử lý sơ bộ thích hợp để đường hóa lên men được trộn với lượng nước thích hợp, enzym, và vi sinh vật cần cho lên men, như nấm men, và hỗn hợp này được cung cấp cho bước đường hóa lên men song song sơ cấp. Quy trình tiêu biểu của phương pháp xử lý đường hóa lên men song song được thể hiện trên Fig. 1.

Trên Fig. 3, nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được xử lý thành trạng thái thích hợp để xử lý đường hóa lên men trong bước xử lý sơ bộ, được đường hóa (xenluloza → glucoza) bởi các enzym và sau đó được lên men (glucoza → etanol) bởi nấm men.

Để làm vi sinh vật được sử dụng để lên men, có thể sử dụng nấm men

và các loại vi sinh vật tương tự. Vi sinh vật có thể được bổ sung cùng với môi trường và các chất tương tự được sử dụng trong nuôi cấy chúng. Để làm nấm men, các nấm men đã biết được mô tả trong PTL 3, ví dụ, các nấm men như *Sacharomyces cerevisiae*, *Pichia stipitis*, *Issatchenkia orientalis*, *Candida brassicae*, và *Rhizopus javanicus* có thể được sử dụng.

Vi sinh vật có thể được cố định. Nếu vi sinh vật được cố định, bước thu hồi vi sinh vật trong bước tiếp theo có thể được bỏ qua, hoặc ít nhất chi phí cho bước thu hồi có thể được làm giảm, và nguy cơ tổn thất vi sinh vật có thể được làm giảm. Ngoài ra, mặc dù không có lợi như việc cố định vi sinh vật, việc thu hồi vi sinh vật có thể được tiến hành dễ dàng hơn bằng cách chọn vi sinh vật có tính chất kết dính.

Trong các quy trình của Fig. 2, hỗn dịch đã được xử lý được tháo ra từ bước đường hóa lên men song song được đưa vào bước phân tách rắn-lỏng trong đó chất rắn được loại bỏ khỏi hỗn dịch, và sau đó phân đoạn chất lỏng chứa sản phẩm lên men và sacarit được đưa vào "Bước chung cất" được biểu thị là "Chung cất" trên Fig. 2 để tách và thu hồi sản phẩm lên men. Trong bước chung cất, sản phẩm lên men được chung cất và được tách bằng thiết bị chung cất áp suất giảm. Khi sử dụng cách chung cất áp suất giảm, sản phẩm lên men có thể được tách riêng ở nhiệt độ thấp, và do đó, sự khử hoạt tính của các enzym có thể được ngăn ngừa. Để làm thiết bị chung cất áp suất giảm, có thể sử dụng thiết bị bay hơi dạng quay, thiết bị bay hơi nhanh và các thiết bị tương tự.

Nhiệt độ chung cất tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 25°C đến 60°C. Nếu nhiệt độ chung cất thấp hơn 25°C, việc chung cất sản phẩm tốn thời gian, và hiệu suất bị giảm. Ngoài ra, nếu nhiệt độ chung cất cao hơn 60°C, các enzym bị làm biến tính bởi nhiệt và bị khử hoạt tính, và lượng enzym được bổ sung mới sẽ tăng. Do vậy, hiệu quả kinh tế bị làm giảm.

Nồng độ của sản phẩm lên men còn lại trong phần chung cất còn dư sau khi chung cất tốt hơn nếu bằng 0,1 % khối lượng hoặc ít hơn. Khi sản phẩm lên men được điều chỉnh tới nồng độ này, lượng sản phẩm lên men được tháo ra cùng với phần cặn còn lại trong bước ly tâm tiếp theo có thể được làm giảm, và hiệu suất có thể được tăng lên.

Phần chung cất còn dư từ bước chung cất sau đó được đưa vào bước ly tâm được biểu thị là "Ly tâm" trên Fig. 2, và phần cặn còn lại có mặt trong phần chung cất còn dư được loại bỏ. Do vậy, thu được phân đoạn chất lỏng chứa các enzym và sacarit.

Phân đoạn chất lỏng chứa các enzym và sacarit này được đưa vào bước phân tách màng được biểu thị là "Phân tách màng" trên Fig. 2, và được tách riêng thành dung dịch chứa enzym và dung dịch chứa sacarit. Dung dịch chứa enzym được tái quay vòng và được cung cấp cho "bước đường hóa lên men song song" thông qua thùng chứa dung dịch enzym được biểu thị là "enzym được thu hồi" trên Fig. 2. Ngoài ra, dung dịch chứa sacarit được thu gom trong thùng chứa dung dịch sacarit được biểu thị là "Sacarit" trên Fig. 2 và được xử lý thành sản phẩm sacarit.

Trong bước đường hóa lên men song song, hexoza, một sản phẩm phân hủy xenluloza nhờ enzym của xenluloza, cụ thể là glucoza, manoza, galactoza và các chất tương tự, và pentoza có nguồn gốc từ hemixenluloza, cụ thể là, xyloza và các chất tương tự, cũng như oligosacarit được tạo ra. Hexoza như glucoza chủ yếu được dùng làm cơ chất lên men, và các rượu như etanol được tạo ra. Ngoài ra, vì pentoza và oligosacarit không được dùng làm cơ chất lên men, pentoza và oligosacarit được trực tiếp đưa vào bước thu hồi enzym cùng với các enzym. Trong trường hợp này, pentoza có thể được bổ sung vào hỗn dịch nguyên liệu thô cùng với nấm men mà nhất định sử dụng pentoza làm cơ chất lên men, hoặc có thể được cho qua xử lý lên men trong quy trình phân tách. Ngoài ra, nếu cần, pentoza có thể được thu hồi làm sản phẩm.

Ngoài ra, oligosacarit có thể được thu hồi làm sản phẩm nếu cần, hoặc có thể được sử dụng làm nguyên liệu thô để được phân hủy thành monosacarit bởi các enzym trong bước đường hóa lên men song song như được bàn luận trong phương pháp xử lý đường hóa nhờ enzym theo quy trình của Fig. 1.

Nồng độ hỗn dịch của nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 1 % khối lượng đến 30 % khối lượng. Nếu nồng độ hỗn dịch nhỏ hơn 1 % khối lượng, nồng độ cuối cùng của sản phẩm là quá thấp, và xảy ra vấn đề là chi phí để cô sản phẩm tăng. Ngoài ra, nếu nồng độ này lớn

hơn 30 % khối lượng và nguyên liệu thô được cô cao, sẽ khó khuấy nguyên liệu thô, và xảy ra vấn đề là hiệu suất bị làm giảm.

<Bước xử lý sàng>

Phần dịch lọc thu được sau khi phân tách rắn-lỏng được cho qua xử lý sàng, và được tách riêng thành các xơ mịn và phần dịch lọc (phân đoạn chất lỏng). Để làm phương pháp xử lý sàng, thiết bị xử lý sàng bất kỳ có khả năng phân tách các xơ mịn có thể được sử dụng mà không bị giới hạn cụ thể. Để làm thiết bị xử lý sàng, lưới sàng, máy ép lọc, và các thiết bị tương tự có thể được sử dụng. Kích thước cỡ lỗ của sàng tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ cỡ lỗ 80 đến cỡ lỗ 600 (28 μm đến 182 μm), và tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ cỡ lỗ 150 đến cỡ lỗ 400 (39 μm đến 97 μm). Để làm tăng hiệu quả xử lý, bộ tạo rung của sàng có thể được gắn vào, và việc làm rung có thể được áp dụng. Các xơ mịn được tách bằng cách xử lý như được mô tả trên đây có hàm lượng lignin thấp so với phần cặn sơ cấp hoặc phần cặn thứ cấp, và có thể được đường hóa một cách dễ dàng bởi các enzym. Ngoài ra, khi các xơ mịn được loại bỏ bằng xử lý sàng, có lợi nếu có thể vận hành thiết bị trong khoảng thời gian dài để có thể làm giảm lượng chất rắn kết dính vào thiết bị chưng cất áp suất giảm được sử dụng trong bước chưng cất tiếp theo. Các xơ mịn đã được thu hồi có thể được chuyển đến bước đường hóa lên men sơ cấp và có thể được dùng làm nguyên liệu thô để đường hóa lên men (xem Fig. 3). Ngoài ra, các xơ mịn được thu hồi có thể được chuyển đến bước đường hóa lên men thứ cấp (quy trình đường hóa lên men khác với quy trình đường hóa lên men sơ cấp) mà sẽ được mô tả dưới đây và có thể được dùng làm nguyên liệu thô để đường hóa lên men (xem Fig. 4). Ngoài ra, các xơ mịn đã được thu hồi cũng có thể được cho qua đường hóa trong quy trình riêng rẽ. Khi các xơ mịn được xử lý bằng đường hóa hoặc đường hóa lên men như vậy, các enzym hấp phụ với các xơ mịn có thể được sử dụng một cách hiệu quả.

Mặt khác, phần dịch lọc được tách bằng cách xử lý sàng được chuyển đến bước chưng cất.

<Bước xử lý đường hóa lên men song song thứ cấp>

Bước xử lý đường hóa lên men song song thứ cấp là bước đường hóa lên

men độc lập với bước xử lý đường hóa lên men song song sơ cấp, và đường hóa lên men có thể được tiến hành bằng cách sử dụng lignoxenluloza mới làm nguyên liệu thô, hoặc đường hóa lên men có thể được tiến hành bằng cách sử dụng phần cặn được tháo ra trong quy trình làm nguyên liệu thô. Ngoài ra, sacarit chưa được lên men thành etanol trong bước đường hóa lên men song song sơ cấp cũng có thể được lên men trong xử lý đường hóa lên men song song thứ cấp. Trong bước đường hóa lên men song song sơ cấp, hexoza có nguồn gốc từ xenluloza, cụ thể là, glucoza, mannoza, galactoza và các chất tương tự được lên men thành etanol, nhưng xyloza, một pentoza có nguồn gốc từ hemixenluloza, có thể vẫn còn chưa được phản ứng. Trong trường hợp này, nấm men mà chắc chắn lên men pentoza hơn có thể được bổ sung vào bước xử lý đường hóa lên men song song thứ cấp, để lên men pentoza. Theo sáng chế, các xơ mịn được thu hồi bằng cách xử lý sàng có thể được chuyển đến bước xử lý đường hóa lên men song song thứ cấp và có thể được xử lý bằng đường hóa lên men.

<Bước chưng cất>

Phần dịch lọc thu được sau bước xử lý sàng, hoặc chất lỏng đã được xử lý (chất lỏng nuôi cấy) thu được sau bước xử lý đường hóa lên men song song thứ cấp được chuyển đến bước chưng cất (xem Fig. 3 và Fig. 4).

Trong bước chưng cất, sản phẩm lên men được chưng cất và được tách bằng thiết bị chưng cất áp suất giảm. Vì sản phẩm lên men có thể được tách riêng ở nhiệt độ thấp dưới áp suất giảm, sự khử hoạt tính của các enzym có thể được ngăn ngừa. Để làm thiết bị chưng cất áp suất giảm, có thể sử dụng thiết bị bay hơi dạng quay, thiết bị bay hơi nhanh và các thiết bị tương tự.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả dựa trên các Ví dụ, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở các Ví dụ này. Trong các Ví dụ và Ví dụ so sánh tương ứng, đơn vị "%" biểu thị "% khối lượng", và đơn vị "phần" biểu thị "phần theo khối lượng."

(Ví dụ A1)

100 g cặn bã rừng (forest residue) đã tán vụn được đưa vào 1000 ml nước chứa 20 g xút nồng độ 48%, và cặn bã rừng được xử lý ở nhiệt độ 90°C trong 30 phút. Sau đó, hỗn hợp được nghiền bằng máy nghiền bột giấy (khe hở 0,5 mm). Sản phẩm này được loại nước và được rửa bằng máy ép kiểu vít, và sản phẩm thu được được sử dụng làm cơ chất nguyên liệu thô.

Cơ chất nguyên liệu thô được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 5%, CSL (dịch ngâm ngô) được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 1%, amoni sulfat được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 0,5%, và natri clorua được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Do vậy, 400 ml hỗn dịch lignoxenluloza có độ dẫn điện bằng 11,8 mS/cm được điều chế.

Hỗn dịch lignoxenluloza được điều chế như được mô tả trên đây được khử trùng bằng hơi nước ở nhiệt độ 120°C trong 20 phút và được làm nguội xuống 40°C. Sau đó, 10 ml enzym (nhãn hiệu: GC220; do Genencor International, Inc. sản xuất) được bổ sung vào đó.

Phản ứng đường hóa được tiến hành ở nhiệt độ 30°C và trong điều kiện khuấy ở tốc độ 120 vòng/phút và 1 ml chất lỏng phản ứng được thu gom sau mỗi 24 giờ và 48 giờ và được ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 10.000 vòng/phút. Hoạt tính enzym của dịch nổi trên bề mặt thu được theo cách đó được xác định.

Tỷ lệ thu hồi được tính toán bằng cách sử dụng hoạt tính của β -glucosidaza, một enzym quan trọng nhất trong quá trình thu hồi enzym, để làm chỉ số. Việc xác định hoạt tính được tiến hành bằng phương pháp được mô tả dưới đây.

(Hoạt tính β -glucosidaza)

Việc xác định hoạt tính β -glucosidaza được tiến hành bằng cách bổ sung 4 μ l dung dịch enzym vào 16 μ l dung dịch chất đệm axetat nồng độ 125 mM (pH 5,0) chứa 4-metyl-umberiferyl-glucosit nồng độ 1,25 mM, thực hiện phản ứng trong 10 phút ở nhiệt độ 37°C, sau đó bổ sung 100 μ l dung dịch chất đệm glyxin-NaOH nồng độ 500 mM (pH 10,0) để kết thúc phản ứng, và xác định mật độ huỳnh quang ở 460 nm sử dụng ánh sáng kích thích ở 350 nm. Tỷ lệ thu hồi enzym được xác định bằng công thức tính toán sau.

Tỷ lệ thu hồi enzym (%) = (Hoạt tính enzym của dịch nổi trên bề mặt/hoạt tính của enzym được bổ sung) $\times$ 100

(Ví dụ A2)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A1, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A1, natri hydro cacbonat được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 8,6 mS/cm.

(Ví dụ A3)

100 g cặn bã rừng đã tán vụn được đưa vào 1000 ml nước chứa 20 g xút nồng độ 48%, và cặn bã rừng được xử lý ở nhiệt độ 90°C trong 30 phút. Sau đó, hỗn hợp được nghiền bằng máy nghiền bột giấy (khe hở 0,5 mm). Sản phẩm này được loại nước và được rửa bằng máy ép kiểu vít, và sản phẩm thu được được sử dụng làm cơ chất nguyên liệu thô.

Cơ chất nguyên liệu thô được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 5%, CSL (dịch ngâm ngô) được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 1%, amoni sulfat được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 0,5%, và natri clorua được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Do vậy, 400 ml hỗn dịch lignoxenluloza có độ dẫn điện bằng 12,0 mS/cm được điều chế.

Hỗn dịch lignoxenluloza được điều chế như được mô tả trên đây được khử trùng bằng hơi nước ở nhiệt độ 120°C trong 20 phút và được làm nguội xuống 40°C. Sau đó, 10 ml enzym (nhãn hiệu: GC220; do Genencor International, Inc. sản xuất) được bổ sung vào đó.

Ngoài ra, nấm men có trên thị trường (nhãn hiệu: Maurivin: Mauri Yeast Australia Pty, Limited) được bổ sung vào hỗn dịch nguyên liệu thô đã được điều chế như được mô tả trên đây, và nấm men được cho qua đường hóa, lên men và nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong điều kiện khuấy ở tốc độ 120 vòng/phút và 1 ml chất lỏng phản ứng được thu gom sau mỗi 24 giờ và 48 giờ và được ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 10.000 vòng/phút. Hoạt tính enzym của dịch nổi trên bề mặt thu được theo cách đó được xác định.

(Ví dụ A4)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, kali clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 13,3 mS/cm.

(Ví dụ A5)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được sử dụng trong phương pháp của Ví dụ A3 được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM, kali iodua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 14,5 mS/cm.

(Ví dụ A6)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, natri sulfat được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 14,7 mS/cm.

(Ví dụ A7)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, natri sulfit được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 13,6 mS/cm.

(Ví dụ A8)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, natri thiosulfat được bổ sung đến nồng độ bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 16,9 mS/cm.

(Ví dụ A9)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, natri cacbonat được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 12,6 mS/cm.

(Ví dụ A10)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, dikali hydro phosphat được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 15,0 mS/cm.

(Ví dụ A11)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, đinatri hydro phosphat được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 11,9 mS/cm.

(Ví dụ A12)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, natri hydro cacbonat được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 8,9 mS/cm.

(Ví dụ A13)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, trinatri xitrat được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 15,4 mS/cm.

(Ví dụ A14)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, đệm axetat (pH =5,0) được bổ sung đến nồng độ bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 7,1 mS/cm.

(Ví dụ A15)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, chất đệm xitrat (pH 5,0) được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 10,9 mS/cm.

(Ví dụ A16)

100 g vỏ cây *Eucalyptus globulus* đã tán vụn được đưa vào 1000 ml nước chứa 20 g xút nồng độ 48%, và cặn bã rừng được xử lý ở nhiệt độ 90°C trong 30 phút. Sau đó, hỗn hợp được nghiền bằng máy nghiền bột giấy (khe hở 0,5 mm). Sản phẩm này được loại nước và được rửa bằng máy ép kiểu vít, và sản phẩm thu được được sử dụng làm cơ chất nguyên liệu thô.

Cơ chất nguyên liệu thô được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 5%, CSL (dịch ngâm ngô) được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 1%, amoni sulfat được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 0,5%, và natri clorua được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Do vậy, 400 ml hỗn dịch lignoxenluloza có độ dẫn điện bằng 11,8 mS/cm được điều chế.

Hỗn dịch lignoxenluloza được điều chế như được mô tả trên đây được khử trùng bằng hơi nước ở nhiệt độ 120°C trong 20 phút và được làm nguội xuống 40°C. Sau đó, 10 ml enzym (nhãn hiệu: GC220; do Genencor International, Inc. sản xuất) được bổ sung vào đó.

Phản ứng đường hóa được tiến hành ở nhiệt độ 30°C trong điều kiện khuấy ở tốc độ 120 vòng/phút và 1 ml chất lỏng phản ứng được thu gom sau

mỗi 24 giờ và 48 giờ và được ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 10.000 vòng/phút. Hoạt tính enzym của dịch nổi trên bề mặt thu được theo cách đó được xác định.

(Ví dụ A17)

100 g vỏ cây *Eucalyptus globulus* đã tán vụn được đưa vào 1000 ml nước chứa 20 g xút nồng độ 48%, và vỏ cây đã tán vụn được xử lý ở nhiệt độ 90°C trong 30 phút. Sau đó, hỗn hợp được nghiền bằng máy nghiền bột giấy (khe hở 0,5 mm). Sản phẩm này được loại nước và được rửa bằng máy ép kiểu vít, và sản phẩm thu được được sử dụng làm cơ chất nguyên liệu thô.

Cơ chất nguyên liệu thô được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 5%, CSL (dịch ngâm ngô) được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 1%, amoni sulfat được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 0,5%, và natri clorua được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Do vậy, 400 ml hỗn dịch lignoxenluloza có độ dẫn điện bằng 11,8 mS/cm được điều chế.

Hỗn dịch lignoxenluloza được điều chế như được mô tả trên đây được khử trùng bằng hơi nước ở nhiệt độ 120°C trong 20 phút và được làm nguội xuống 40°C. Sau đó, 10 ml enzym (nhãn hiệu: GC220; do Genencor International, Inc. sản xuất) được bổ sung vào đó. Ngoài ra, nấm men có trên thị trường (nhãn hiệu: Maurivin: Mauri Yeast Australia Pty, Limited) được bổ sung vào hỗn dịch nguyên liệu thô đã được điều chế như được mô tả trên đây, và nấm men được cho qua đường hóa, lên men và nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong điều kiện khuấy ở tốc độ 120 vòng/phút và 1 ml chất lỏng phản ứng được thu gom sau mỗi 24 giờ và 48 giờ và được ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 10.000 vòng/phút. Hoạt tính enzym của dịch nổi trên bề mặt thu được theo cách đó được xác định.

(Ví dụ A18)

100 g cặn bã rừng đã tán vụn được đưa vào 700 ml nước chứa 20 g natri sulfit nồng độ 97,0% và 1 g xút, và cặn bã rừng được xử lý ở nhiệt độ 170°C trong 60 phút. Sau đó, hỗn hợp được nghiền bằng máy nghiền bột giấy (khe hở 0,5 mm). Sản phẩm này được loại nước và được rửa bằng máy ép kiểu vít, và sản phẩm thu được được sử dụng làm cơ chất nguyên liệu thô.

Cơ chất nguyên liệu thô được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 5%,

CSL (dịch ngâm ngô) được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 1%, amoni sulfat được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 0,5%, và natri clorua được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Do vậy, 400 ml hỗn dịch lignoxenluloza có độ dẫn điện bằng 8,9 mS/cm được điều chế.

Hỗn dịch lignoxenluloza được điều chế như được mô tả trên đây được khử trùng bằng hơi nước ở nhiệt độ 120°C trong 20 phút và được làm nguội xuống 40°C. Sau đó, 10 ml enzym (nhãn hiệu: GC220; do Genencor International, Inc. sản xuất) được bổ sung vào đó.

Phản ứng đường hóa được tiến hành ở nhiệt độ 30°C trong điều kiện khuấy ở tốc độ 120 vòng/phút và 1 ml chất lỏng phản ứng được thu gom sau mỗi 24 giờ và 48 giờ và được ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 10.000 vòng/phút. Hoạt tính enzym của dịch nổi trên bề mặt thu được theo cách đó được xác định.

(Ví dụ A19)

100 g cặn bã rừng đã tán vụn được đưa vào 700 ml nước chứa 20 g natri sulfat nồng độ 97,0% và 1 g xút, và cặn bã rừng được xử lý ở 170°C trong 60 phút. Sau đó, hỗn hợp được nghiền bằng máy nghiền bột giấy (khe hở 0,5 mm). Sản phẩm này được loại nước và được rửa bằng máy ép kiểu vít, và sản phẩm thu được được sử dụng làm cơ chất nguyên liệu thô.

Cơ chất nguyên liệu thô được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 5%, CSL (dịch ngâm ngô) được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 1%, amoni sulfat được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 0,5%, và natri clorua được bổ sung ở nồng độ cuối cùng bằng 100 mM. Do vậy, 400 ml hỗn dịch lignoxenluloza có độ dẫn điện bằng 9,4 mS/cm được điều chế.

Hỗn dịch lignoxenluloza được điều chế như được mô tả trên đây được khử trùng bằng hơi nước ở nhiệt độ 120°C trong 20 phút và được làm nguội xuống 40°C. Sau đó, 10 ml enzym (nhãn hiệu: GC220; do Genencor International, Inc. sản xuất) được bổ sung vào đó.

Ngoài ra, nấm men có trên thị trường (nhãn hiệu: Maurivin: Mauri Yeast Australia Pty, Limited) được bổ sung vào hỗn dịch nguyên liệu thô được điều chế như được mô tả trên đây, và nấm men được cho qua đường hóa, lên

men và nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong điều kiện khuấy ở tốc độ 120 vòng/phút và 1 ml chất lỏng phản ứng được thu gom sau mỗi 24 giờ và 48 giờ và được ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 10.000 vòng/phút. Hoạt tính enzym của dịch nổi trên bề mặt thu được theo cách đó được xác định.

(Ví dụ A20)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A16, chỉ khác là 700 ml nước chứa 20 g natri sulfit nồng độ 97,0% và 1 g xút được sử dụng thay vì 1000ml nước chứa 20g xút nồng độ 48% được sử dụng trong phương pháp của Ví dụ A16. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 11,2 mS/cm.

(Ví dụ A21)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A17, chỉ khác là 700 ml nước chứa 20 g natri sulfit nồng độ 97,0% và 1 g xút được sử dụng thay vì 1000ml nước chứa 20g xút nồng độ 48% được sử dụng trong phương pháp của Ví dụ A17. Độ dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 11,2 mS/cm.

(Ví dụ so sánh A1)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A1, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A1, thì bổ sung axit sulfuric để điều chỉnh độ dẫn điện của hệ phản ứng đến 6,5 mS/cm.

(Ví dụ so sánh A2)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A1, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A1, thì bổ sung natri hydroxit để điều chỉnh độ dẫn điện của hệ phản ứng đến 8,0 mS/cm.

(Ví dụ so sánh A3)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ 3, chỉ khác là natri clorua không được bổ sung trong phương pháp của Ví dụ A3. Độ

dẫn điện trong hệ phản ứng tại thời điểm này là 4,2 mS/cm.

(Ví dụ so sánh A4)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, thì bổ sung axit sulfuric để điều chỉnh độ dẫn điện của hệ phản ứng đến 6,3 mS/cm.

(Ví dụ so sánh A5)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, thì bổ sung axit clohydric để điều chỉnh độ dẫn điện của hệ phản ứng đến 6,6 mS/cm.

(Ví dụ so sánh A6)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A3 chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A3, thì bổ sung natri hydroxit để điều chỉnh độ dẫn điện của hệ phản ứng đến 8,2 mS/cm.

(Ví dụ so sánh A7)

Thử nghiệm được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ A1, chỉ khác là thay vì natri clorua được bổ sung đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM trong phương pháp của Ví dụ A1, thì bổ sung natri clorua đến nồng độ bằng 5 mM để điều chỉnh độ dẫn điện của hệ phản ứng đến 4,6 mS/cm.

Các kết quả của Ví dụ A1 đến A21 và Ví dụ so sánh A1 đến A7 được thể hiện trong Bảng A1.

(Bảng A1)

Số ví dụ	Độ dẫn điện (mS/cm)	pH	Tỷ lệ thu hồi enzym (%)	
			Sau khi được nuôi cấy trong 24 giờ	Sau khi được nuôi cấy trong 48 giờ
Ví dụ A1	11,8	4,0	90,2	88,1
Ví dụ A2	8,6	7,5	89,9	86,5

Ví dụ A3	12,0	4,0	89,8	88,7
Ví dụ A4	13,3	3,9	79,2	77,3
Ví dụ A5	14,5	4,0	81,1	88,0
Ví dụ A6	14,7	3,9	75,8	75,0
Ví dụ A7	13,6	7,0	86,6	84,9
Ví dụ A8	16,9	4,0	84,5	82,0
Ví dụ A9	12,6	9,6	72,5	70,8
Ví dụ A10	15,0	6,8	90,2	89,1
Ví dụ A11	11,9	6,8	89,0	86,2
Ví dụ A12	8,9	7,4	90,5	87,6
Ví dụ A13	15,4	5,8	89,7	87,3
Ví dụ A14	7,1	4,5	90,9	89,8
Ví dụ A15	10,9	5,2	91,0	88,4
Ví dụ A16	11,8	4,2	88,3	85,4
Ví dụ A17	11,8	4,3	88,2	85,9
Ví dụ A18	8,9	4,0	90,3	84,5
Ví dụ A19	9,4	4,0	91,0	86,7
Ví dụ A20	11,2	4,3	92,8	91,2
Ví dụ A21	11,2	4,4	92,5	91,1
Ví dụ so sánh A1	6,5	2,7	38,4	17,6
Ví dụ so sánh A2	8,0	9,3	60,1	44,6
Ví dụ so sánh A3	4,2	4,0	58,4	34,2
Ví dụ so sánh A4	6,3	2,8	35,2	15,1
Ví dụ so sánh A5	6,6	2,2	29,3	8,8
Ví dụ so sánh A6	8,2	9,1	54,1	41,6
Ví dụ so sánh A7	4,6	4,0	62,0	50,7

Theo các kết quả của Bảng A1, phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym của các Ví dụ theo sáng chế cho thấy

rằng khi hỗn dịch nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza trong đó muối hòa tan được trong nước được bổ sung vào hệ phản ứng đường hóa nhờ enzym và độ dẫn điện đã được điều chỉnh đến khoảng giá trị đã được xác định trước, được cho qua đường hóa enzym, không chỉ tỷ lệ thu hồi enzym từ chất lỏng đã được xử lý đường hóa là cao trong giai đoạn sớm, mà tỷ lệ thu hồi enzym cũng ổn định ở mức cao ngay cả sau một khoảng thời gian.

Trái lại, khi độ dẫn điện được điều chỉnh bằng cách sử dụng axit sulfuric (Ví dụ so sánh A1, Ví dụ so sánh A4), axit clohydric (Ví dụ so sánh A5), hoặc natri hydroxit (Ví dụ so sánh A2, Ví dụ so sánh A6) mà không bổ sung muối hòa tan được trong nước vào hệ phản ứng đường hóa nhờ enzym, thì tỷ lệ thu hồi enzym từ chất lỏng đã được xử lý đường hóa là thấp trong giai đoạn sớm, và tỷ lệ thu hồi sau một khoảng thời gian cũng giảm đáng kể. Ngoài ra, ngay cả trong trường hợp trong đó độ dẫn điện của hệ phản ứng enzym là thấp (Ví dụ so sánh A3, Ví dụ so sánh A7) mà không bổ sung muối hoặc bổ sung muối, thì tỷ lệ thu hồi enzym từ chất lỏng đã được xử lý đường hóa là thấp trong giai đoạn sớm, và bị giảm tiếp sau một khoảng thời gian.

(Ví dụ B1)

Sản xuất etanol bằng dòng quy trình thể hiện trên Fig. 3.

[Xử lý sơ bộ]

Vỏ cây *Eucalyptus globulus* đã được thái lát được tán vụn bằng máy tán một vít được lắp với lưới lỗ tròn 20 mm do Seiho Kiko Co., Ltd. sản xuất, SC-15) và được sử dụng làm nguyên liệu thô.

Dung dịch canxi hydroxit được tạo hỗn dịch canxi hydroxit trong nước được bổ sung vào nguyên liệu thô đến nồng độ bằng 12,5 % khối lượng so với 100 kg (khối lượng khô tuyệt đối) của nguyên liệu thô (tỷ lệ chất lỏng so với nguyên liệu thô 8), và sau đó hỗn hợp được gia nhiệt nóng ở nhiệt độ 120°C trong 1 giờ (xử lý kiềm). Nguyên liệu thô sau khi xử lý kiềm được nghiền bằng máy nghiền bột giấy do Kumagai Riki Kogyo Co., Ltd. sản xuất, KRK High Concentration Disk Refiner: khe hở 0,5 mm). Lượng nước tinh khiết tương đương được bổ sung vào nguyên liệu thô sau khi xử lý nghiền, và sau đó hỗn

hợp được điều chỉnh tới độ pH 5 bằng cách sử dụng axit sulfuric trong điều kiện khuấy. Sau đó, hỗn hợp được cho qua phân tách rắn-lỏng (loại nước) sử dụng lưới sàng có cỡ sàng 20 (847 μm), và sau đó chất rắn được rửa bằng nước cho đến khi độ dẫn điện của dung dịch đạt đến 30 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Chất rắn thu được sau khi phân tách rắn-lỏng (sản phẩm đã được xử lý sơ bộ) được cung cấp làm nguyên liệu thô cho bước đường hóa lên men.

[Đường hóa lên men song song sơ cấp]

100 kg (khối lượng khô tuyệt đối) nguyên liệu thô, 5 g/L polypepton, 3 g/L chất chiết nấm men, và 3 g/L chất chiết mầm lúa mì lần lượt được bổ sung vào thùng đường hóa lên men song song sơ cấp sao cho nồng độ nguyên liệu thô sẽ là 10 % khối lượng, và sau đó nước được bổ sung vào đó để điều chỉnh thể tích cuối cùng đến 1 m^3 . Chất lỏng nuôi cấy chứa các tế bào nấm men đã được nuôi cấy sơ bộ trong 50 L môi trường chất lỏng (glucoza 30 g/L, polypepton 5 g/L, chất chiết nấm men 3 g/L, chất chiết mầm lúa mì 3 g/L, độ pH 5,6) ở nhiệt độ 30°C trong 24 giờ, và 50 L xenlulaza có trên thị trường (Accellerase DUET, do Genencor International, Inc. sản xuất) được bổ sung vào thùng lên men, và sự đường hóa lên men song song sơ cấp được tiến hành ở nhiệt độ 30°C trong 24 giờ. Độ pH của chất lỏng nuôi cấy trong quá trình đường hóa lên men được điều chỉnh đến 5,0.

[Phân tách rắn-lỏng]

Chất lỏng nuôi cấy thu được bằng cách đường hóa lên men song song sơ cấp được cho qua phân tách rắn-lỏng bằng máy ép kiểu vít (SHX-200 $\times$ 1500 L, do Fukoku Kogyo Co., Ltd. sản xuất, kích thước lưới 1,2 mm), và phần cặn (Phần cặn sơ cấp) và phần dịch lọc được tách riêng. Phần cặn sơ cấp được thu hồi như vậy là 19,4 kg (khối lượng khô tuyệt đối).

[Xử lý sàng]

Phần dịch lọc thu được sau phân tách rắn-lỏng được cho đi qua lưới sàng có cỡ sàng 400 (39 μm), và nhờ đó các xơ mịn trong chất lỏng nuôi cấy được thu hồi. Lượng xơ mịn đã được thu hồi thu được theo cách như vậy tổng cộng là 15,6 kg (khối lượng khô tuyệt đối). Toàn bộ lượng (15,6 kg) các xơ mịn

đã được thu hồi được chuyển đến thùng đường hóa lên men song song sơ cấp.

[Sản xuất etanol]

Phần dịch lọc thu được bằng cách xử lý sàng được tách riêng thành dung dịch nước chứa etanol và chất lỏng nuôi cấy đã được cô bằng cách sử dụng thiết bị chưng cất áp suất giảm (Evapor CEP-1, Okawara Corp.) trong các điều kiện nhiệt độ chưng cất: 40°C, nhiệt độ gia nhiệt: 80°C, và lượng chất lỏng được cấp: 150 L/giờ. Thể tích và nồng độ etanol của dung dịch nước chứa etanol thu được theo cách như vậy được xác định, và lượng etanol thu hồi được được tính toán. Nồng độ etanol trong dung dịch được xác định bằng bộ cảm biến glucoza (Model BF-400, do Oji Scientific Instruments Co., Ltd. sản xuất).

[Ly tâm]

Chất lỏng nuôi cấy đã được cô và tách riêng khỏi thiết bị chưng cất áp suất giảm được tách riêng thành phần cặn (phần cặn thứ cấp) và phần dịch lọc bằng cách vận hành thiết bị ly tâm loại lắng gạn (do IHI Corp. sản xuất, Model HS-204L) ở tốc độ quay bằng 4500 vòng/phút và vận tốc vi sai bằng 5,0 vòng/phút. Phần dịch lọc được chuyển đến thùng đường hóa lên men song song sơ cấp. 18,6 kg (khối lượng khô tuyệt đối) của phần cặn thứ cấp được thu hồi.

(Ví dụ B2)

Việc sản xuất etanol được tiến hành bằng dòng sản xuất được thể hiện trên Fig. 4.

[Xử lý sơ bộ]

Việc xử lý sơ bộ được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1.

[Đường hóa lên men song song sơ cấp]

Đường hóa lên men song song sơ cấp được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1.

[Phân tách rắn-lỏng]

Phân tách rắn-lỏng được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1. 19,2 kg (khối lượng khô tuyệt đối)

phần cặn sơ cấp được thu hồi.

[Xử lý sàng]

Việc xử lý sàng được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1. Lượng xơ mịn thu hồi thu được bằng cách cho tổng cộng 100 kg nguyên liệu thô qua đường hóa lên men song song sơ cấp là tổng cộng 15,5 kg (khối lượng khô tuyệt đối).

[Đường hóa lên men song song thứ cấp]

15,5 kg (khối lượng khô tuyệt đối) các xơ mịn thu được bằng cách xử lý sàng được đưa vào thùng đường hóa lên men song song thứ cấp để làm nguyên liệu thô. 5 g/L polypepton, 3 g/L chất chiết nấm men, và 3 g/L chất chiết mầm lúa mì lần lượt được đưa vào thùng đường hóa lên men song song thứ cấp, và thể tích cuối cùng được điều chỉnh đến 150 L bằng nước. Nấm men có trên thị trường (nhãn hiệu: Maurivin: Mauri Yeast Australia Pty Limited) được nuôi cấy trong 50 L môi trường chất lỏng (glucoza 30 g/L, polypepton 5 g/L, chất chiết nấm men 3 g/L, chất chiết mầm lúa mì 3 g/L, độ pH 5,6) ở nhiệt độ 30°C trong 24 giờ. 50 L chất lỏng nuôi cấy chứa nấm men thu được sau khi nuôi cấy, và 10 L xenulaza có trên thị trường (Accellerase DUET, do Genencor International, Inc. sản xuất) được đưa vào thùng lên men, và đường hóa lên men song song thứ cấp được tiến hành ở nhiệt độ 30°C trong 24 giờ. Độ pH của chất lỏng nuôi cấy trong quá trình đường hóa lên men được điều chỉnh đến 5,0.

[Sản xuất etanol]

Việc sản xuất etanol được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1.

[Ly tâm]

Việc ly tâm được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1. 18,6 kg (khối lượng khô tuyệt đối) phần cặn thứ cấp được thu hồi.

<Ví dụ so sánh B1>

Việc sản xuất etanol được tiến hành bằng dòng quy trình thể hiện trên

Fig. 5. Thử nghiệm loại trừ [xử lý sàng] của Ví dụ B1 được tiến hành như Ví dụ so sánh B1 (được mô tả dưới đây).

[Xử lý sơ bộ]

Việc xử lý sơ bộ được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1.

[Đường hóa lên men song song sơ cấp]

Đường hóa lên men song song sơ cấp được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1.

[Phân tách rắn-lỏng]

Phân tách rắn-lỏng được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1. 19,3 kg (khối lượng khô tuyệt đối) phần cặn sơ cấp được thu hồi.

[Sản xuất etanol]

Phần dịch lọc thu được bằng cách phân tách chất rắn được tách riêng thành dung dịch nước chứa etanol và chất lỏng nuôi cấy đã được cô bằng phương pháp giống như phương pháp được mô tả trong Ví dụ B1. Thể tích và nồng độ etanol của dung dịch nước chứa etanol thu được theo cách như vậy được xác định, và lượng etanol được thu hồi được tính toán.

[Ly tâm]

Việc ly tâm được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1. 34,2 kg (khối lượng khô tuyệt đối) phần cặn thứ cấp được thu hồi.

(Bảng B1)

	Sản xuất etanol (kg)
Ví dụ B1	13,9
Ví dụ B2	14,1
Ví dụ so sánh B1	10,5

Các kết quả về lượng sản xuất etanol được thể hiện trong Bảng B1. Trong Ví dụ B1 (trường hợp trong đó các xơ mịn được thu hồi và được chuyển

đến thùng đường hóa lên men song song sơ cấp) và Ví dụ B2 (trường hợp trong đó các xơ mịn được thu hồi và được chuyển đến thùng đường hóa lên men song song thứ cấp), lượng sản xuất etanol tăng so với Ví dụ so sánh B1 (trường hợp trong đó các xơ mịn không được thu hồi).

(Ví dụ B3)

[Thử nghiệm đường hóa lên men]

Thử nghiệm đường hóa lên men được tiến hành trong ống thử nghiệm sử dụng các xơ mịn thu được trong Ví dụ B1 làm nguyên liệu thô, và sự sản xuất etanol được xác định bằng phương pháp được mô tả dưới đây.

Nấm men có trên thị trường (nhãn hiệu: Maurivin: Mauri Yeast Australia Pty Limited) được nuôi cấy trong môi trường được điều chế bằng cách trộn 100 ml môi trường chất lỏng A (polypepton 5 g/L, chất chiết nấm men 3 g/L, chất chiết mầm lúa mì 3 g/L, glucoza 30 g/L, được hòa tan trong nước cất, độ pH 5,6) và 20 ml môi trường chất lỏng B (polypepton 15 g/L, chất chiết nấm men 10 g/L, chất chiết mầm lúa mì 10 g/L: được hòa tan trong nước cất) ở nhiệt độ 30°C trong 24 giờ. 100 ml chất lỏng nuôi cấy thu được sau khi nuôi cấy được ly tâm (5000 vòng/phút trong 20 phút), và dịch nổi trên bề mặt được loại bỏ. Thể tích của chất lỏng nuôi cấy còn dư được điều chỉnh đến 10 ml (các tế bào nấm men được thu gom) (các tế bào nấm men được cô).

Nguyên liệu thô (các xơ mịn) được đưa vào bình cầu hình nón có dung tích bằng 300 ml, đến nồng độ cuối cùng bằng 5 % khối lượng. Sau đó, 10 ml tế bào nấm men đã được cô và 2,5 ml xenulaza có trên thị trường (Accellerase DUET, do Genencor International, Inc. sản xuất) được bổ sung vào đó, và thể tích cuối cùng được làm thành 100 ml bằng nước cất. Hỗn hợp lỏng này được nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C trong 24 giờ (đường hóa lên men). Chất lỏng nuôi cấy thu được sau khi nuôi cấy được ly tâm (5000 vòng/phút trong 20 phút), và nồng độ etanol trong dịch nổi trên bề mặt được xác định. Ngoài ra, số Kappa (chỉ số hàm lượng lignin) của các xơ mịn được xác định bằng phương pháp xác định tương đương với JIS P8211.

<Ví dụ so sánh B2>

Thử nghiệm đường hóa lên men được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B3, sử dụng phần cặn sơ cấp thu được trong Ví dụ B1 làm nguyên liệu thô. Hiệu suất etanol và số Kappa của phần cặn sơ cấp được xác định.

<Ví dụ so sánh B3>

Thử nghiệm đường hóa lên men được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B3, sử dụng phần cặn thứ cấp thu được trong Ví dụ B1 làm nguyên liệu thô. Hiệu suất etanol và số Kappa của phần cặn thứ cấp được xác định.

(Bảng B2)

	Nồng độ etanol (%)	Số Kappa
Ví dụ B3 (các xơ mịn)	0,58	145
Ví dụ so sánh B2 (phần cặn sơ cấp)	0,10	247
Ví dụ so sánh B3 (phần cặn thứ cấp)	0,23	315

Nồng độ etanol và số Kappa được thể hiện trong Bảng B2. Khi các xơ mịn (Ví dụ B3) được dùng làm nguyên liệu thô, nồng độ etanol trong chất lỏng nuôi cấy là cao hơn so với trường hợp sử dụng phần cặn sơ cấp (Ví dụ so sánh B2) và phần cặn thứ cấp (Ví dụ so sánh B3) làm nguyên liệu thô. Ngoài ra, số Kappa của các xơ mịn (Ví dụ B3) có giá trị thấp hơn so với số Kappa của phần cặn sơ cấp (Ví dụ so sánh B2) và phần cặn thứ cấp (Ví dụ so sánh B3). Từ các kết quả được mô tả trên đây, đã thấy rằng các xơ mịn có hàm lượng lignin thấp so với phần cặn sơ cấp và phần cặn thứ cấp, và do đó, khi các xơ mịn được dùng làm nguyên liệu thô để đường hóa lên men, hiệu suất etanol được tăng lên so với phần cặn sơ cấp và phần cặn thứ cấp. Các xơ mịn cho phép đường hóa lên men diễn ra một cách dễ dàng, ngay cả nếu các xơ mịn này không được xử lý sơ bộ (xử lý cơ học hoặc các biện pháp tương tự), và do đó đã thấy rằng các xơ mịn là thích hợp làm nguyên liệu thô để đường hóa lên men.

(Ví dụ B4)

Thử nghiệm trong đó cặn bã rừng của *Eucalyptus globulus* (vỏ cây 70%, cành và lá 30%) được sử dụng làm nguyên liệu thô, thay vì vỏ cây *Eucalyptus globulus* được dùng làm nguyên liệu thô trong Ví dụ B1, được tiến hành như Ví

dự B4.

Thử nghiệm được tiến hành hoàn toàn theo cách giống như trong Ví dụ B1, chỉ khác là căn bã rừng được sử dụng (dòng quy trình là giống như được thể hiện trên Fig. 1).

<Ví dụ so sánh B4>

Thử nghiệm trong đó [Xử lý sàng] của Ví dụ B4 được bỏ qua, được tiến hành như Ví dụ so sánh B4. Thử nghiệm được tiến hành hoàn toàn theo cách giống như trong Ví dụ B4, chỉ khác là xử lý sàng được bỏ qua (dòng quy trình là giống như được thể hiện trên Fig. 5).

(Bảng B3)

	Hiệu suất etanol (kg)
Ví dụ B4	12,4
Ví dụ so sánh B4	10,2

Các kết quả về hiệu suất etanol được thể hiện trong Bảng B3. Trong Ví dụ B4 (trường hợp trong đó các xơ mịn được thu gom và được chuyển đến thùng đường hóa lên men song song sơ cấp), hiệu suất etanol được tăng lên so với Ví dụ so sánh B4 (trường hợp trong đó các xơ mịn không được thu hồi).

(Ví dụ B5)

Việc sản xuất etanol được tiến hành bằng dòng quy trình thể hiện trên Fig. 6.

[Xử lý sơ bộ]

Việc xử lý sơ bộ được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ B1.

[Đường hóa lên men song song sơ cấp]

Đường hóa lên men song song sơ cấp được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1, chỉ khác là natri clorua được bổ sung làm chất điện phân vào chất lỏng nuôi cấy. Natri clorua (chất điện phân) được bổ sung vào chất lỏng nuôi cấy đã được điều chỉnh bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1, đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM (độ dẫn điện của hỗn dịch nguyên liệu thô: 12,2 mS/cm). Sau đó, các tế bào nấm men và xenulaza có trên thị trường được đưa vào thùng

lên men bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1, và do đó, sự đường hóa lên men song song sơ cấp được tiến hành.

[Phân tách rắn-lỏng]

Phân tách rắn-lỏng được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1. 15,3 kg (khối lượng khô tuyệt đối) phân cặn sơ cấp được thu hồi.

[Xử lý sàng]

Việc xử lý sàng được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1. Tổng cộng 13,4 kg (khối lượng khô tuyệt đối) các xơ mịn được thu hồi. Toàn bộ lượng (13,4 kg) các xơ mịn thu hồi được được chuyển đến thùng đường hóa lên men song song sơ cấp.

[Sản xuất etanol]

Việc sản xuất etanol được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1.

[Ly tâm]

Sự ly tâm được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1. 14,7 kg (khối lượng khô tuyệt đối) phân cặn thứ cấp được thu hồi.

(Bảng B4)

	Hiệu suất etanol (kg)
Ví dụ B5	14,3

Các kết quả về hiệu suất etanol được thể hiện trong Bảng B4. Trong trường hợp bổ sung natri clorua vào chất lỏng nuôi cấy (Ví dụ B5), hiệu suất etanol được tăng lên so với trường hợp trong đó natri clorua không được bổ sung (Ví dụ B1).

(Ví dụ B6)

Việc sản xuất etanol được tiến hành bằng dòng quy trình giống như được thể hiện trên Fig. 7.

[Xử lý sơ bộ]

Việc xử lý sơ bộ được tiến hành theo cách giống như trong Ví dụ B1.

[Đường hóa lên men song song sơ cấp]

Việc đường hóa lên men song song sơ cấp được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1, chỉ khác là natri clorua được bổ sung làm chất điện phân vào chất lỏng nuôi cấy. Natri clorua (chất điện phân) được bổ sung vào chất lỏng nuôi cấy đã được điều chỉnh bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1, đến nồng độ cuối cùng bằng 100 mM (độ dẫn điện của hỗn dịch nguyên liệu thô: 12,2 mS/cm). Sau đó, các tế bào nấm men và xenulaza có trên thị trường được đưa vào thùng lên men bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1, và do đó, đường hóa lên men song song sơ cấp được tiến hành.

[Phân tách rắn-lỏng]

Phân tách rắn-lỏng được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1. 14,8 kg (khối lượng khô tuyệt đối) phân cặn sơ cấp được thu hồi.

[Xử lý sàng]

Việc xử lý sàng được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1. Tổng cộng 13,0 kg (khối lượng khô tuyệt đối) các xơ mịn được thu hồi. Toàn bộ lượng (13,0 kg) các xơ mịn được thu hồi được chuyển đến thùng đường hóa lên men song song sơ cấp.

[Đường hóa lên men song song thứ cấp]

Đường hóa lên men song song thứ cấp được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B2.

[Sản xuất etanol]

Việc sản xuất etanol được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp được sử dụng trong Ví dụ B1.

[Ly tâm]

Việc ly tâm được tiến hành bằng phương pháp giống như phương pháp

được sử dụng trong Ví dụ B1. 14,2 kg (khối lượng khô tuyệt đối) phân cận thứ cấp được thu hồi.

(Bảng B5)

	Hiệu suất etanol (kg)
Ví dụ B6	14,5

Các kết quả về hiệu suất etanol được thể hiện trong Bảng 5. Trong trường hợp bổ sung natri clorua vào chất lỏng nuôi cấy (Ví dụ B6), hiệu suất etanol được tăng lên so với trường hợp trong đó natri clorua không được bổ sung (Ví dụ B2).

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Theo phương pháp xử lý đường hóa nhờ enzym theo sáng chế, sự hấp phụ của các enzym đường hóa với các thành phần chưa được phản ứng hoặc phân cận phản ứng của nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza được ngăn chặn, sự phân tách các enzym từ chất lỏng đã được xử lý đường hóa nhờ enzym được tạo điều kiện thuận lợi, và tỷ lệ tái quay vòng của các enzym đường hóa được duy trì ở mức cao trong khoảng thời gian dài trong quy trình xử lý đường hóa nhờ enzym. Do đó, có thể sản xuất sacarit, etanol và các chất tương tự trên quy mô công nghiệp bằng cách xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym.

Ngoài ra, theo sáng chế, hiệu suất etanol có thể được tăng lên bằng cách tái sử dụng các xơ mịn được bao gồm trong chất lỏng nuôi cấy thu được sau khi đường hóa lên men, để làm nguyên liệu thô của quá trình đường hóa lên men. Ngoài ra, hiệu suất etanol có thể được tăng lên bằng cách bổ sung chất điện phân vào chất lỏng nuôi cấy.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym, phương pháp này bao gồm các bước:

bổ sung nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được cho qua bước xử lý sơ bộ để tạo ra nguyên liệu thô thích hợp cho phản ứng đường hóa nhờ enzym, và chất điện phân chứa muối hòa tan được trong nước, vào nước chứa enzym đường hóa xenluloza, nhờ đó điều chế hỗn dịch nguyên liệu thô mà độ dẫn điện của nó đã được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 7,1 mS/cm đến 16,9 mS/cm;

thực hiện xử lý đường hóa nhờ enzym bằng cách cho hỗn dịch nguyên liệu thô qua phản ứng đường hóa nhờ enzym trong khi duy trì độ dẫn điện của hỗn dịch thô nằm trong khoảng từ 7,1 mS/cm đến 16,9 mS/cm;

phân tách và thu hồi sản phẩm phản ứng và dung dịch chứa enzym từ hỗn dịch đã được xử lý sau xử lý đường hóa nhờ enzym; và

tái quay vòng dung dịch chứa enzym đã được thu hồi để làm enzym cho quy trình xử lý đường hóa nhờ enzym, trong đó:

bước xử lý sơ bộ bao gồm ngâm nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza trong dung dịch chứa kiềm được chọn từ natri hydroxit, kali hydroxit, canxi hydroxit, natri cacbonat và natri hydro cacbonat, hoặc hỗn hợp của chúng, hoặc hỗn hợp của natri sulfit và kiềm này,

nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza là cặn bã rừng hoặc vỏ cây, và

muối hòa tan được trong nước là ít nhất một muối hòa tan được trong nước được chọn từ muối kim loại kiềm và muối kim loại kiềm thổ.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó muối hòa tan được trong nước là muối được chọn từ nhóm bao gồm halogenua, sulfat, sulfit, thiosulfat, cacbonat, hydro cacbonat, phosphat, dihydro phosphat, hydro diphosphat, axetat, và xitrat của kim loại kiềm và kim loại kiềm thổ.

3. Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym, phương pháp này bao gồm các bước:

bước xử lý sơ bộ là cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza qua xử lý để tạo ra nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza thích hợp cho phản ứng đường hóa

nhờ enzym;

bước xử lý đường hóa nhờ enzym là bổ sung nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được xử lý sơ bộ, và chất điện phân chứa muối hòa tan được trong nước, vào nước chứa enzym đường hóa xenluloza, nhờ đó điều chế hỗn dịch nguyên liệu thô mà độ dẫn điện của nó đã được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 7,1 mS/cm đến 16,9 mS/cm, và cho hỗn dịch nguyên liệu thô qua phản ứng đường hóa nhờ enzym trong khi duy trì độ dẫn điện của hỗn dịch thô nằm trong khoảng từ 7,1 mS/cm đến 16,9 mS/cm;

bước phân tách rắn-lỏng là loại bỏ phần cặn rắn ra khỏi hỗn dịch đã được xử lý thu được từ bước xử lý đường hóa nhờ enzym;

bước ly tâm là ly tâm phân đoạn chất lỏng thu được từ bước phân tách rắn-lỏng, nhờ đó thu được phân đoạn chất lỏng chứa các enzym và trong đó phần cặn còn lại đã được loại bỏ;

bước phân tách màng là phân tách phân đoạn chất lỏng thu được từ bước ly tâm thành dung dịch chứa enzym và dung dịch chứa sacarit; và

bước tái quay vòng enzym là tái quay vòng và cung cấp dung dịch chứa enzym thu được từ bước phân tách màng cho bước xử lý đường hóa nhờ enzym để làm nguồn enzym, trong đó:

nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza được cho qua xử lý đường hóa nhờ enzym thông qua một chuỗi các bước, trong đó

bước xử lý sơ bộ bao gồm ngâm nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza trong dung dịch chứa kiềm được chọn từ natri hydroxit, kali hydroxit, canxi hydroxit, natri cacbonat và natri hydro cacbonat, hoặc hỗn hợp của chúng, hoặc hỗn hợp của natri sulfit và kiềm này,

nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza là cặn bã rừng hoặc vỏ cây, và

muối hòa tan được trong nước là ít nhất một muối hòa tan được trong nước được chọn từ muối kim loại kiềm và muối kim loại kiềm thổ.

4. Phương pháp theo điểm 3, trong đó bước xử lý đường hóa nhờ enzym là bước xử lý đường hóa và lên men đồng thời trong đó xử lý đường hóa nhờ enzym nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza và xử lý lên men sacarit thu được được thực hiện kết hợp bằng cách sử dụng chế phẩm xenlulaza và vi sinh vật để lên men

mà sử dụng sacarit làm cơ chất lên men, nhờ đó tạo ra sản phẩm lên men cùng với sacarit.

5. Phương pháp theo điểm 4, trong đó phương pháp này còn bao gồm:

bước chung cất là phân tách và thu hồi sản phẩm lên men từ phân đoạn chất lỏng thu được từ bước phân tách rắn-lỏng thông qua chưng cất;

trong đó bước ly tâm được thực hiện bằng cách ly tâm phần chưng cất còn dư thu được từ bước chưng cất, nhờ đó thu được phân đoạn chất lỏng chứa các enzym và sacarit trong đó phần cặn còn lại đã được loại bỏ; và

nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza được cho qua xử lý đường hóa và lên men đồng thời thông qua một chuỗi các bước.

6. Phương pháp theo điểm 5, trong đó dung dịch chứa sacarit được phân tách và được thu hồi từ bước phân tách màng là chất lỏng chứa sacarit mà bao gồm oligosacarit làm thành phần chính.

7. Phương pháp theo điểm 5, trong đó phân đoạn chất lỏng thu được từ bước ly tâm được tái quay vòng và được cung cấp cho bước xử lý đường hóa nhờ enzym để làm dung dịch chứa enzym chứa sacarit, mà không đi qua bước phân tách màng.

8. Phương pháp xử lý đường hóa nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza nhờ enzym, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

bước xử lý sơ bộ là cho nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza qua xử lý để tạo ra nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza thích hợp cho phản ứng đường hóa nhờ enzym;

bước xử lý đường hóa và lên men đồng thời là bổ sung nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza đã được xử lý sơ bộ, vi sinh vật để lên men mà sử dụng sacarit làm cơ chất lên men, và chất điện phân chứa muối hòa tan được trong nước, vào nước chứa enzym đường hóa xenluloza, nhờ đó điều chế hỗn dịch nguyên liệu thô mà độ dẫn điện của nó đã được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 7,1 mS/cm đến 16,9 mS/cm, và cho hỗn dịch nguyên liệu thô này qua cả xử lý

đường hóa nhờ enzym và xử lý lên men gồm sử dụng sacarit thu được để làm cơ chất trong khi duy trì độ dẫn điện của hỗn dịch thô nằm trong khoảng từ 7,1 mS/cm đến 16,9 mS/cm;

bước phân tách rắn-lỏng là phân tách hỗn dịch đã được xử lý thu được từ bước xử lý đường hóa và lên men đồng thời thành phần cặn và phân đoạn chất lỏng sử dụng máy ép kiểu vít có cỡ lưới nằm trong khoảng từ 1,0 mm đến 2,0 mm;

bước xử lý sàng là phân tách phân đoạn chất lỏng thu được từ bước phân tách rắn-lỏng thành các xơ mịn và phân đoạn chất lỏng thông qua xử lý sàng sử dụng sàng có cỡ sàng từ 80 đến 600;

bước chưng cất là phân tách và thu hồi sản phẩm lên men từ phân đoạn chất lỏng, trong đó các xơ mịn đã được loại bỏ bằng cách xử lý sàng, thông qua chưng cất;

bước ly tâm là ly tâm phân chưng cất còn dư thu được từ bước chưng cất để loại bỏ phần cặn bất kỳ còn lại, nhờ đó thu được phân đoạn chất lỏng chứa các enzym và sacarit; và

bước tái quay vòng là tái quay vòng và cung cấp phân đoạn chất lỏng thu được từ bước ly tâm cho bước xử lý đường hóa và lên men đồng thời để làm dung dịch chứa enzym chứa sacarit, mà không đi qua bước phân tách màng, trong đó:

nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza được cho qua xử lý đường hóa và lên men đồng thời thông qua một chuỗi các bước, trong đó:

bước xử lý sơ bộ bao gồm ngâm nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza trong dung dịch chứa kiềm được chọn từ natri hydroxit, kali hydroxit, canxi hydroxit, natri cacbonat và natri hydro cacbonat, hoặc hỗn hợp của chúng, hoặc hỗn hợp của natri sulfit và kiềm này,

nguyên liệu thô gốc lignoxenluloza là cặn bã rừng hoặc vỏ cây, và

muối hòa tan được trong nước là ít nhất một muối hòa tan được trong nước được chọn từ nhóm bao gồm muối kim loại kiềm và muối kim loại kiềm thổ.

FIG. 1

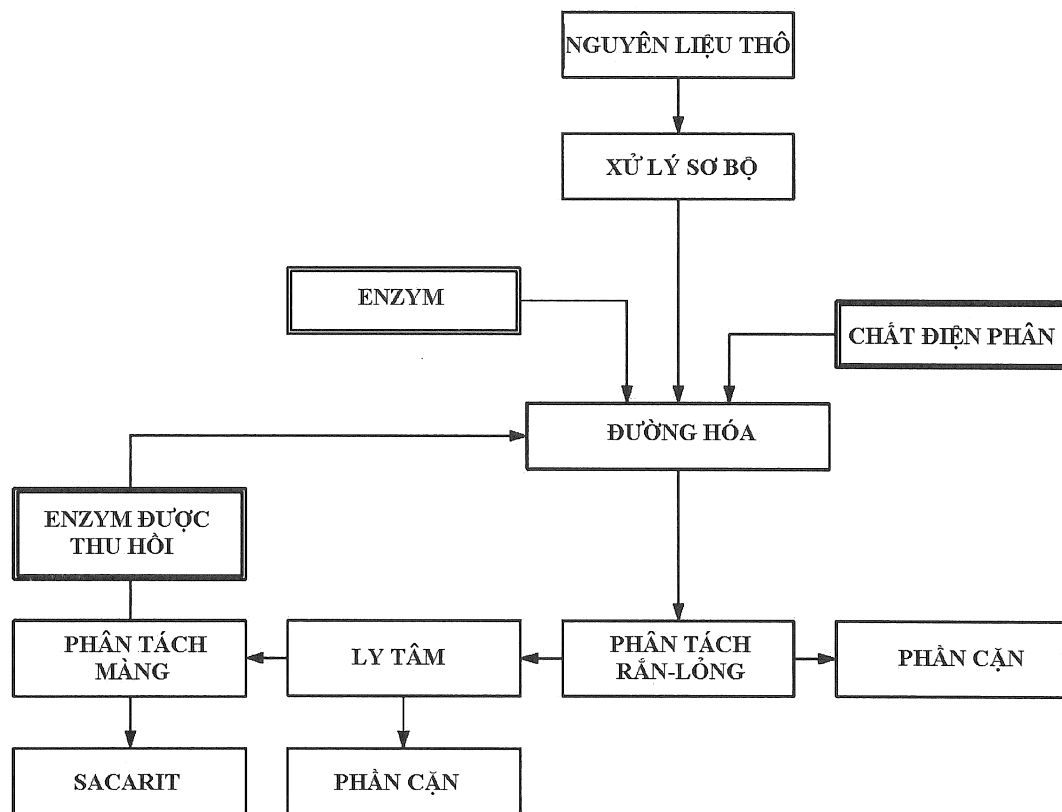


FIG. 2

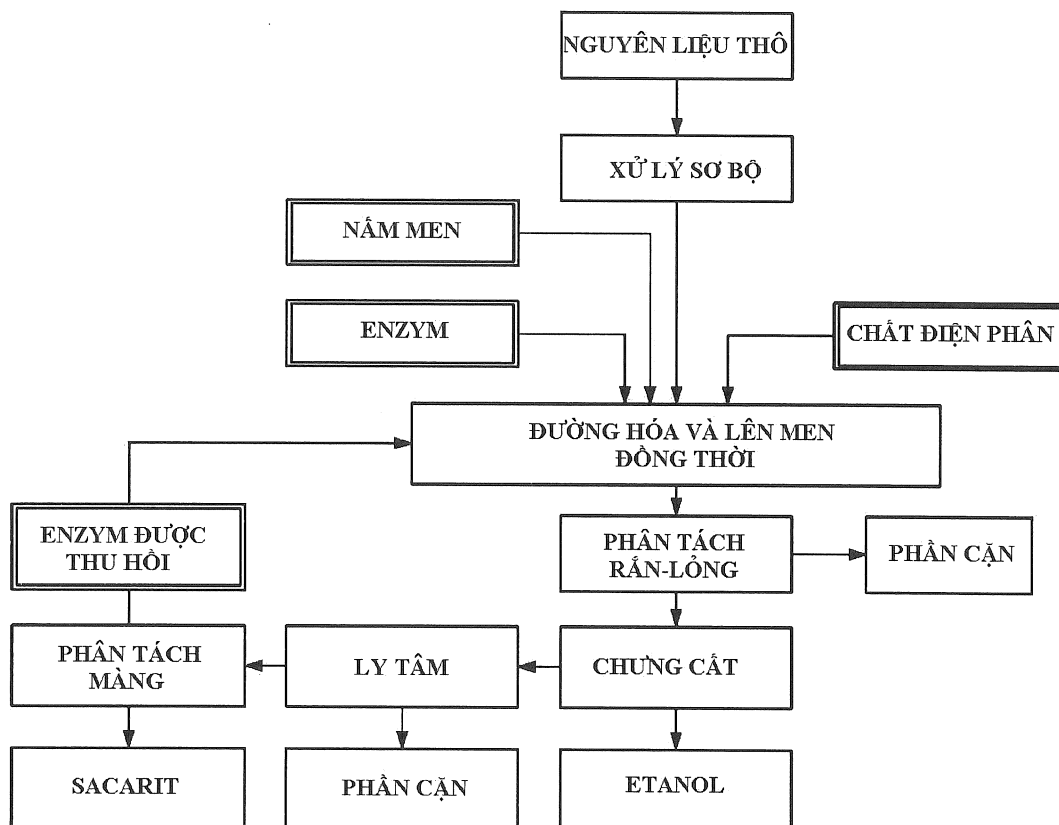


FIG. 3

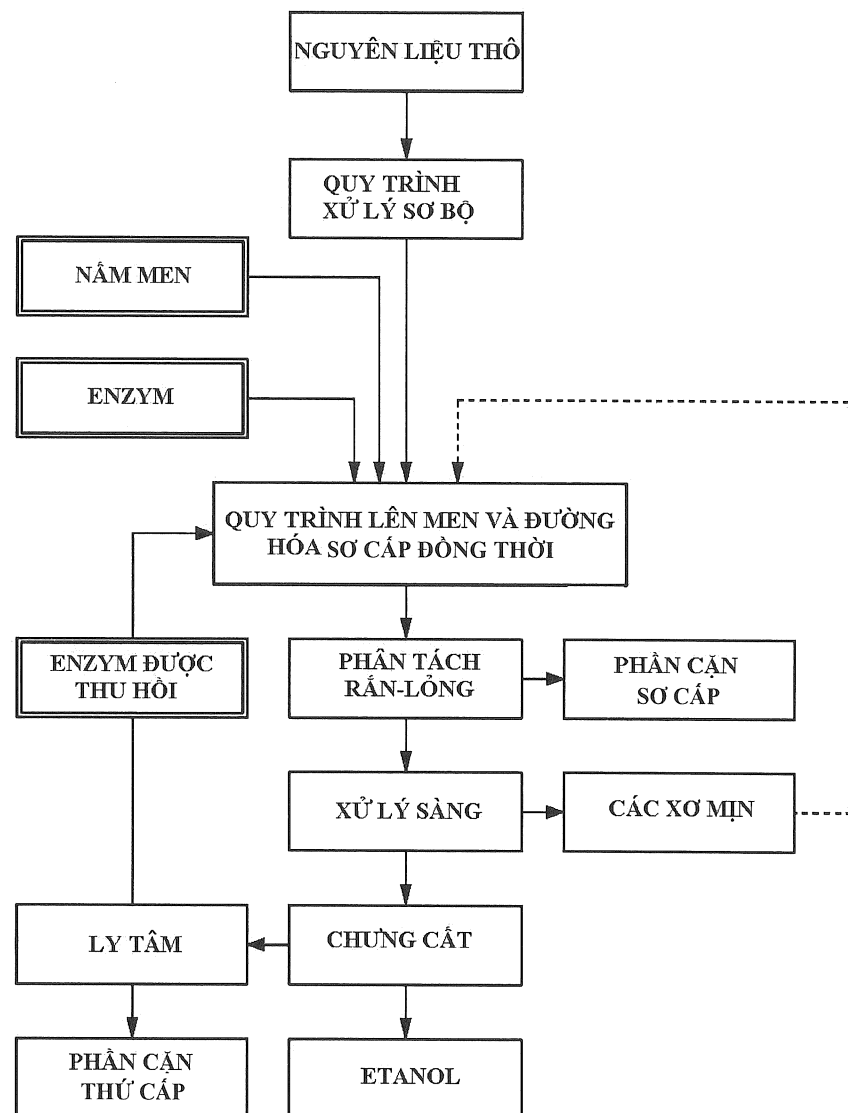


FIG. 4

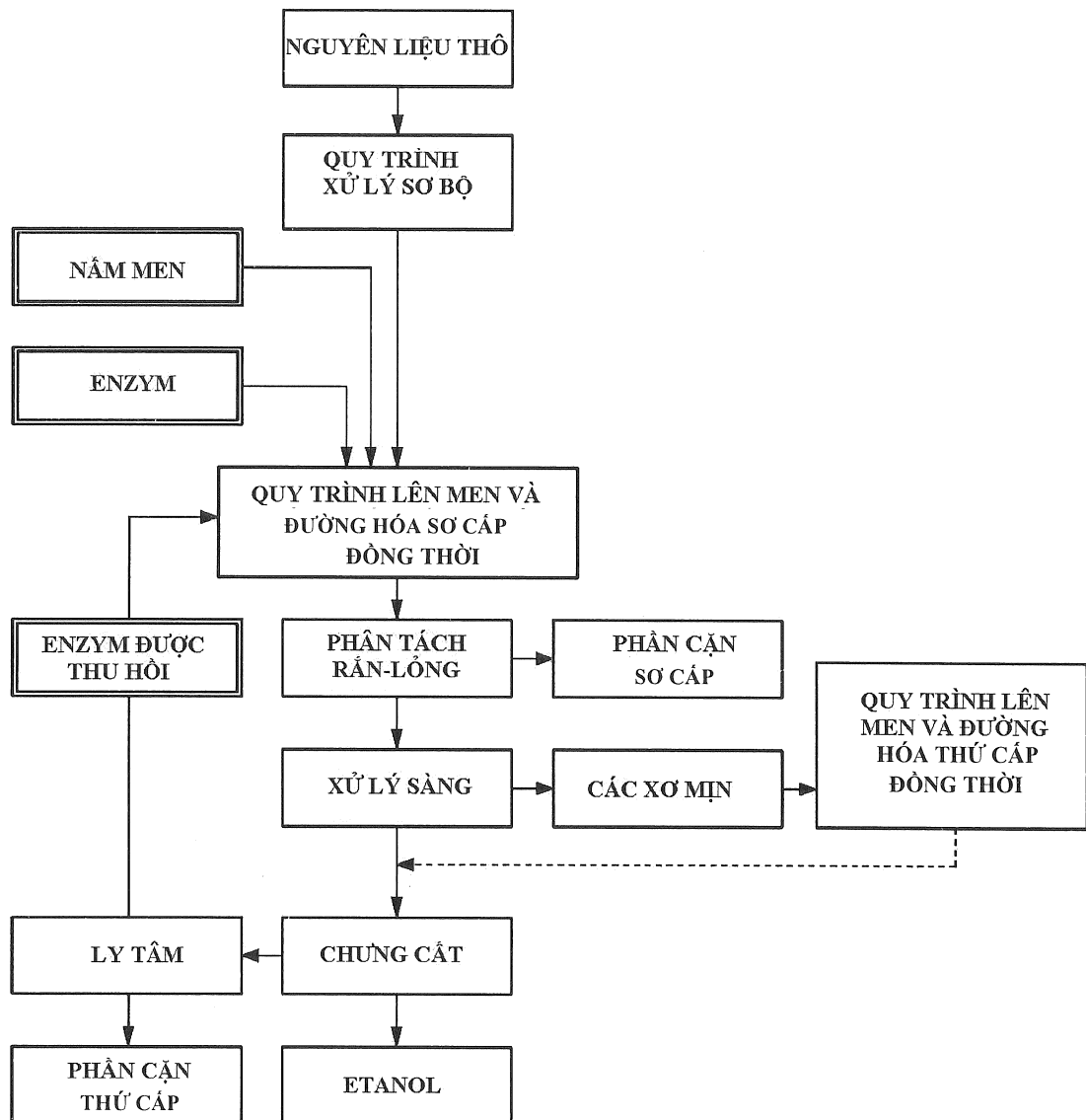


FIG. 5

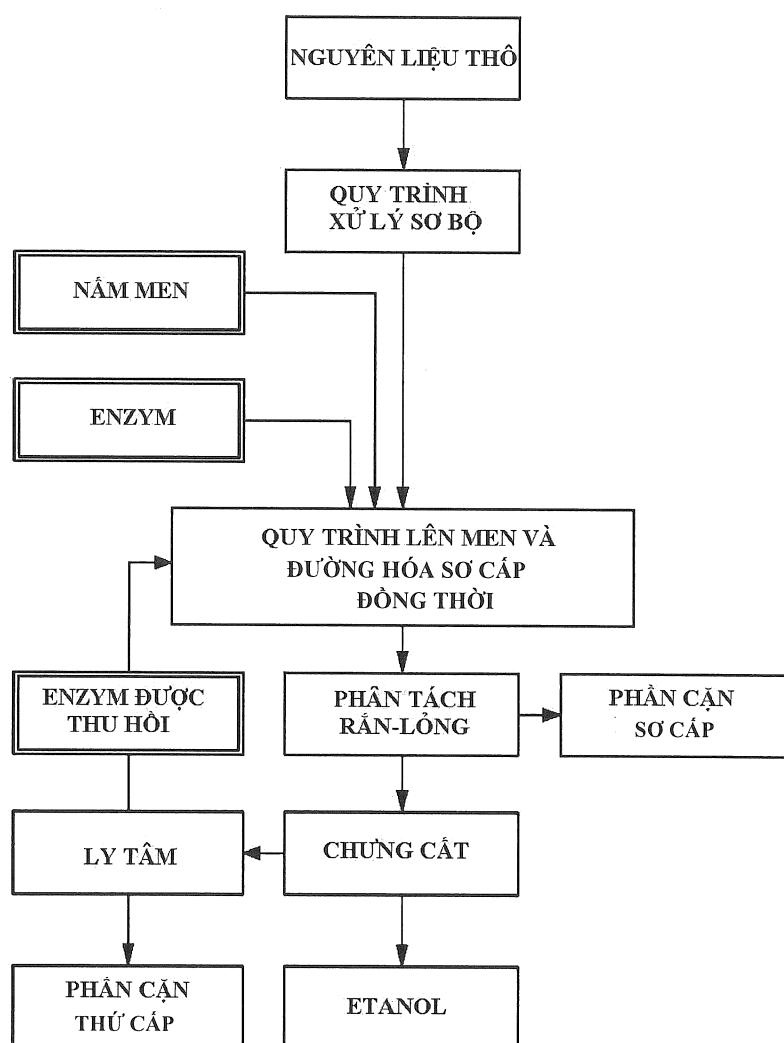


FIG. 6

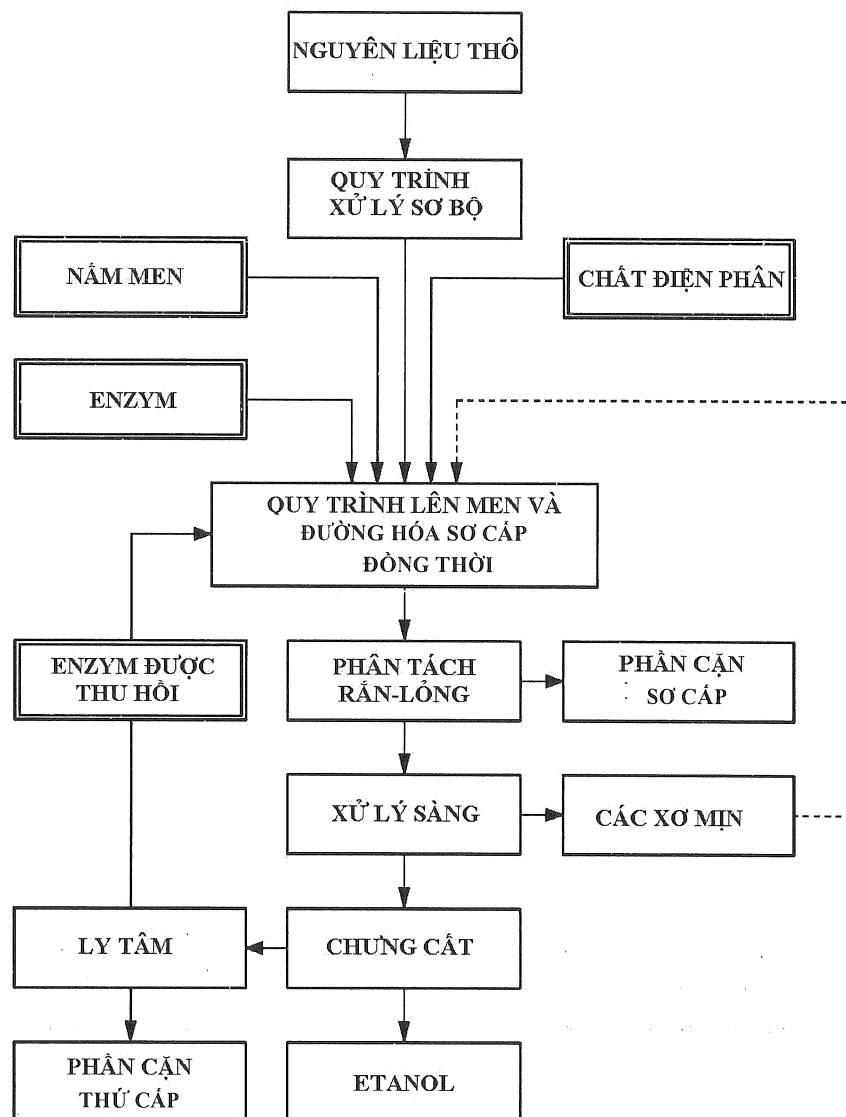


FIG. 7

