



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **113872** (13) **C2**
(51) МПК (2017.01)

C12N 11/14 (2006.01)

C12N 9/42 (2006.01)

C12P 7/06 (2006.01)

C12P 7/10 (2006.01)

C12P 19/02 (2006.01)

C12P 1/04 (2006.01)

C08B 15/00

C12P 7/14 (2006.01)

C12P 19/14 (2006.01)

C10G 3/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2014 11944	(72) Винахідник(и):	Медофф Маршалл (US), Мастерман Томас (US), Медофф Харрісон (US)
(22) Дата подання заявки:	18.05.2010	(73) Власник(и):	КСІЛЕКО, ІНК., 360 Audubon Road, Wakefield, MA 01880, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	27.03.2017	(74) Представник:	Петров Андрій Володимирович, реєстр. №139
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/180,019, 61/252,300	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	F. Sharmin, S. Rakshit, H. Jayasuriya, "Enzyme Immobilization on Glass Surfaces for the Development of Phosphate Detection Biosensors," Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal. Manuscript FP 06 019, vol. IX. Apr. 2007, pp. 1-12. Ernst Hempelmann "Hemozoin Biocrystallization in Plasmodium falciparum and the antimalarial activity of crystallization inhibitors" Parasitol Res, Mar. 2007 (published online Nov. 17, 2006), 100(4), pp. 671-676. CA 945921A, 23.04.1974 US 3519538 A, 07.07.1970 US 4113566 A, 12.09.1978 US 4816499 A, 28.03.1989 US 7105339 A, 12.09.2006 US 20040229984 A, 18.11.2004 US 20060040280 A, 23.02.2006
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	20.05.2009, 16.10.2009		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	10.02.2015, Бюл.№ 3		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	27.03.2017, Бюл.№ 6		
(62) Номер та дата подання попередньої заявки, з якої виділено заявку, позначену кодом (21):	а201115097, 18.05.2010		

(54) БІООБРОБКА

(57) Реферат:

Винахід належить до ферментаційної суміші, яка включає неорганічний матеріал у формі частинок або волокон, і зазначений неорганічний матеріал має полярні функціональні групи,

UA 113872 C2

ферментативний мікроорганізм або фермент, кожний з яких має комплементарні функціональні групи, що мають притягувальну взаємодію з функціональними групами неорганічного матеріалу, оцукрений матеріал, і розчинник, де неорганічний матеріал був функціоналізований шляхом опромінення матеріалу іонізуючим випромінюванням з наступним загартуванням опроміненого матеріалу за допомогою гасильного засобу, придатного для продукування полярних функціональних груп, та де неорганічний матеріал вибраний з групи, в яку входять карбонат кальцію, арагонітова глина, орторомбічні глини, кальцитова глина, ромбодрична глина, каолін, бентонітова глина, дикальцію фосфат, трикальцію фосфат, пірофосфат кальцію, нерозчинний метафосфат натрію, ортофосфат магнію, тризаміщений фосфат магнію, гідроксіапатити, синтетичні апатити, оксид алюмінію, гідратований оксид алюмінію, ксерогель діоксиду кремнію, алюмосилікатні комплекси металів, алюмосилікат натрію, силікат цирконію, діоксид кремнію, графіт, воластоніт, слюда, скло, скловолокно, кремнезем, тальк, вуглецеві волокна, провідна сажа, керамічні порошки і керамічні волокна, тригідрат оксиду алюмінію, подрібнені будівельні відходи, і їх суміші.

Дана заявка встановлює пріоритет тимчасової патентної заявки США № 61/180019, поданої 20 травня 2009 р., і тимчасової патентної заявки США № 61/25300, поданої 16 жовтня 2009 р. Повний опис кожної з даних тимчасових заявок включений за допомогою посилання в даний документ.

Вуглеводи можна конвертувати в інші матеріали методами біообробки, в яких використовуються агенти, в тому числі мікроорганізми або ферменти. Наприклад, в процесі ферментації вуглеводи перетворюються в спирти або кислоти під дією мікроорганізмів, наприклад, цукор перетворюється в спирт при використанні дріжджів в анаеробних умовах. Коли ферментація зупиняється до повної конверсії вуглеводу в кінцевий продукт, наприклад, цукру в спирт, кажуть, що відбувається "застигання" ферментації.

Інші способи біообробки включають ферментативний гідроліз целюлозних і лігноцелюлозних матеріалів в низькомолекулярні цукри.

У деяких випадках присутність субстрату в біообробці сприяє перетворенню низькомолекулярного цукру в проміжний або кінцевий продукт або целюлозного або лігноцелюлозного матеріалу в низькомолекулярний цукор. Автори даного винаходу виявили, що включення субстрату, наприклад, неорганічного або органічного матеріалу, в суміші з низькомолекулярним цукром в середовищі, наприклад, розчинника або системи розчинників і мікроорганізмами може підвищити вихід і швидкість виробництва проміжного або кінцевого продукту, що отримується шляхом конверсії цукру, наприклад, спирту, в тому числі етанолу або бутанолу (наприклад, н-бутанолу). Включення субстрату також може запобігати неповній, повільній або "застиглій" конверсії продукту, наприклад, шляхом ферментації. Аналогічним чином, включення субстрату може прискорювати ферментативний гідроліз целюлозних або лігноцелюлозних матеріалів.

Загалом, даний винахід стосується способів, які включають використання мікроорганізму і/або ферменту, який є іммобілізованим на субстраті, наприклад волокнах або частинках, для конверсії вуглеводу в продукт.

У одному аспекті даний винахід стосується способу, який включає використання мікроорганізму, який є іммобілізованим на субстраті, наприклад, неорганічних або пластмасових частинках або волокнах, щоб конвертувати низькомолекулярний цукор, наприклад, сахарозу, глюкозу, ксиліозу або суміш будь-якого з них в проміжний або кінцевий продукт. У деяких випадках субстрат функціоналізують функціональними групами, які субстрат не містить в своєму природному стані.

Термін "іммобілізований" означає, що мікроорганізм і/або фермент пов'язаний з субстратом безпосередньо або опосередковано (наприклад, через хімічний лінкер), ковалентними, водневими, іонними або еквівалентними зв'язками, і/або механічною взаємодією, наприклад, між мікроорганізмом і порами волокна або частинки. Зв'язок можна створювати, наприклад, електричною поляризацією матеріалу субстрату. Дана взаємодія може бути постійною, напівпостійною або короткочасною. Механічна взаємодія може включати поміщення або прикріплення мікроорганізму або ферменту в порах або інших місцях волокна або частинки.

Деякі варіанти здійснення включають одну або більше наступних відмітних особливостей.

Конверсія може включати можливість мікроорганізму конвертувати щонайменше частину низькомолекулярного цукру в спирт, наприклад, етанол або бутанол, або у вуглеводень або водень. Конверсія може включати ферментацію. Мікроорганізм може включати дріжджі, наприклад, *Saccharomyces cerevisiae* (пекарські дріжджі) і/або *Pichia stipitis*, або бактерії, наприклад, *Zyomonas mobilis*. Спосіб може додатково включати опромінення субстрату, наприклад, неорганічних волокон, наприклад, іонізуючим випромінюванням, в тому числі пучком частинок. Волокна або частинки можуть мати питому поверхню по методу Брунауера-Еммета-Теллера (BET), що складає більше ніж $0,25 \text{ м}^2/\text{г}$, і/або пористість, що становить щонайменше 70 %. У деяких випадках питома поверхня по методу BET може складати більше ніж 10, 100, 250, 500 або навіть $1000 \text{ м}^2/\text{г}$. Даний спосіб може додатково включати повторне використання субстрату в процесі подальшої конверсії.

У іншому аспекті даний винахід стосується суміші, яка включає субстрат, наприклад, зернистий матеріал, що має полярні функціональні групи, мікроорганізм або фермент, що має комплементарні функціональні групи, і рідке середовище. У деяких випадках субстрат включає волокна, наприклад, неорганічні волокна або пластмасові волокна.

У наступному аспекті даний винахід стосується композиції, що включає субстрат, наприклад, волокна або частинки, що мають функціональні групи, і мікроорганізм або фермент, що має комплементарні функціональні групи, причому даний мікроорганізм або фермент є іммобілізованим на субстраті. Коли використовують волокна, ці волокна можуть являти собою, наприклад, неорганічні волокна або пластмасові волокна.

Даний винахід також стосується способу, який включає конверсію низькомолекулярного цукру або матеріалу, який включає низькомолекулярний цукор в суміші з субстратом, мікроорганізмом і розчинником або системою розчинників, наприклад, водою або сумішшю води і органічного розчинника, в проміжний або кінцевий продукт. Приклади розчинників або систем розчинників включають воду, гексан, гексадекан, гліцерин, хлороформ, толуол, етилацетат, петролейний ефір, зріджений нафтовий газ (ЗНГ), іонні рідини і їх суміші. Розчинник або система розчинників може знаходитися у вигляді однієї фази, двох або більше фаз. Субстрат може існувати, наприклад, у волокнистій формі. Наприклад, субстрат може включати неорганічні волокна або синтетичні волокна, наприклад, пластмасові волокна.

У деяких випадках наявність субстрату (наприклад, волокон, оброблених яким-небудь способом, описаним в даному документі, або необроблених) в процесі виробництва проміжного або кінцевого продукту, наприклад, етанолу, може підвищити швидкість виробництва даного продукту. Без наміру слідувати якій-небудь певній теорії вважають, що наявність твердої речовини, наприклад, що має високу питому поверхню і/або високу пористість, може збільшувати швидкості реакцій збільшенням ефективною концентрації розчинених речовин і створення субстрату, на якому можуть відбуватися реакції.

Наприклад, опромінений або неопромінений волокнистий матеріал, наприклад, неорганічні матеріали, в тому числі вуглецеві волокна або скловолокно, або синтетичні полімерні матеріали, в тому числі пластмасові волокна, можна вводити в процес ферментації, наприклад, в процес ферментації кукурудзи з утворенням етанолу або в процес ферментації екстракту цукрової тростини, щоб підвищити швидкість виробництва щонайменше на 10, 15, 20, 30, 40, 50, 75 або 100 % або більше, наприклад щонайменше на 150 %, або навіть до 1000 %. Волокнистий матеріал може мати велику питому поверхню, високу пористість і/або низьку об'ємну густину. У деяких варіантах здійснення волокнистий матеріал присутній в суміші в кількості, що складає від приблизно 0,5 мас. % до приблизно 50 мас. %, наприклад, від приблизно 1 мас. % до приблизно 25 мас. % або від приблизно 2 мас. % до приблизно 12,5 мас. %. У інших варіантах здійснення волокнистий матеріал присутній в кількостях, що складають більше ніж приблизно 0,5 мас. %, наприклад, більше ніж приблизно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або навіть більше ніж приблизно 10 мас. %. Наприклад, в деяких варіантах здійснення окиснений, опромінений або хімічно функціоналізований волокнистий матеріал можна вводити в процес ферментації низькомолекулярного цукру, наприклад, щоб підвищити швидкість і вихід ферментації.

Оскільки сам субстрат не витрачається в процесі конверсії, даний субстрат можна повторно використати в багаторазових періодичних процесах або можна використати безперервно у виробництві великих об'ємів продукту.

Деякі варіанти здійснення включають одну або більше наступних відмітних особливостей.

Конверсія може забезпечувати мікроорганізму можливість конвертувати щонайменше частину низькомолекулярного цукру в спирт, наприклад, етанол або бутанол. Наприклад, конверсія може включати ферментацію. Мікроорганізм може включати дріжджі, наприклад, вибрані з групи, в яку входять *Saccharomyces cerevisiae* і *Pichia stipitis*, або бактерії, в тому числі *Zygomonas mobilis*. Мікроорганізм може являти собою природний мікроорганізм або генетично модифікований мікроорганізм. Наприклад, мікроорганізм може являти собою бактерію, наприклад, целюлітичну бактерію, грибок, наприклад, дріжджі, рослину або протист, наприклад, водорість, найпростіше або грибоподібний протист, наприклад, слизовик (міксоміцет). Коли організми є сумісними, можна використати суміші. Конверсія може забезпечувати процентну ефективність, що становить щонайменше 140 %, в деяких випадках щонайменше 170 %. Для обчислення процентної ефективності ферментації з утворенням етанолу використовують наступне рівняння:

Процентна ефективність = $\frac{\text{вміст етанолу в досліджуваному зразку}}{\text{вміст етанолу в контрольному зразку}} \cdot 100$.

Субстрат може включати волокнистий матеріал. Даний спосіб може додатково включати опромінення волокнистого матеріалу перед змішуванням, наприклад, за допомогою іонізуючого випромінювання, повна доза якого складає, наприклад, щонайменше 5 Мрад. Опромінення можна здійснювати з використанням пучка частинок, наприклад, електронного пучка. У деяких варіантах здійснення опромінення здійснюють на субстраті, причому субстрат знаходиться в атмосфері повітря, азоту, кисню, гелію або аргону. Опромінення можна здійснювати з використанням іонізуючого випромінювання, включаючи гамма-промені, пучок електронів або ультрафіолетове випромінювання в діапазоні С, що має довжину хвилі від приблизно 100 нм до приблизно 280 нм. Опромінення можна здійснювати, використовуючи множинні застосування

випромінювання. У деяких випадках випромінювання можна застосовувати при повній дозі, що складає від приблизно 10 Мрад до приблизно 150 Мрад, наприклад, при потужності дози, що складає від приблизно 0,5 до приблизно 10 Мрад/доба або від 1 Мрад/с до приблизно 10 Мрад/с. У деяких варіантах здійснення опромінення включає застосування двох або більше джерел випромінювання, включаючи гамма-випромінювання і пучок електронів.

У іншому аспекті субстрат включений в процес оцукрювання, в якому присутність субстрату може підвищити швидкість реакції і вихід низькомолекулярного цукру з вихідного матеріалу, що містить целюлозу. У даному аспекті даний винахід стосується способу, що включає використання оцукрювального агента, який є іммобілізованим на частинках, щоб оцукрювати целюлозний або лігноцелюлозний матеріал. Оцукрювальний агент може являти собою, наприклад, фермент.

Якщо не визначена інша умова, всі технічні і наукові терміни, що використовуються в даному документі, мають такі ж значення, які є загальнозрозумілими для звичайного фахівця в галузі техніки, до якої належить даний винахід. Хоча в практичному здійсненні або випробуванні даного винаходу можна використати способи і матеріали, аналогічні або еквівалентні тим, які описані в даному документі, відповідні способи і матеріали описані нижче. Всі публікації, патентні заявки, патенти і інші джерела, згадані в даному документі, у всій своїй повноті включені в нього за допомогою посилання. У випадку суперечності переважаючу силу має даний опис, що включає визначення. Крім того, дані матеріали, способи і приклади є лише ілюстративними і не призначені як обмежувальні.

Інші відмітні особливості і переваги даного винаходу стануть очевидні з наступного докладного опису і з формули винаходу.

Фіг. 1 представляє блок-схему, що ілюструє обробку волокон і використання оброблених волокон в процесі ферментації. Фіг. 2 схематично представляє функціоналізоване волокно, яке взаємодіє з мікроорганізмом.

Субстратні матеріали, описані в даному документі, наприклад, функціоналізовані зернисті матеріали, можуть сприяти конверсії низькомолекулярного цукру в проміжний або кінцевий продукт, наприклад, в процесі ферментації. Функціоналізовані субстратні матеріали, що містять функціональні групи бажаного типу і числа, в тому числі карбоксильні групи, енольні групи, альдегідні групи, кетонні групи, нітрильні групи, нітрогрупи або нітрозогрупи. можна отримати, використовуючи способи, описані в даному документі, або інші відомі способи.

Матеріали, що обговорюються нижче, можна функціоналізувати функціональними групами, які є комплементарними відносно функціональних груп на агенті, який має бути використати в конверсії низькомолекулярного цукру, включаючи, наприклад, функціональні групи, присутні на мікроорганізмах, в тому числі дріжджах.

Прийнятні субстратні матеріали включають органічні і неорганічні зернисті матеріали. Субстратні матеріали включають, наприклад, неорганічні наповнювачі, в тому числі карбонат кальцію, (наприклад, обложений карбонат кальцію або природний карбонат кальцію), арагонітова глина, орторомбічні глини, кальцитова глина, ромбодрична глина, каолінова глина, бентонітова глина, гідрофосфат кальцію, ортофосфат кальцію, пірофосфат кальцію, нерозчинний метафосфат натрію, ортофосфат магнію, тризаміщений фосфат магнію, гідроксіапатити, синтетичні апатити, оксид алюмінію, гідратований оксид алюмінію, ксерогель діоксиду кремнію, алюмосилікатні комплекси металів, алюмосилікат натрію, силікат цирконію, діоксид кремнію, графіт, воластоніт, слюда, скло, скловолокно, кремнезем, тальк, вуглецеві волокна, провідна сажа, керамічні порошки і керамічні волокна, а також тригідрат оксиду алюмінію. Можна також використати інші зернисті матеріали, до яких належать, наприклад, подрібнені будівельні відходи, подрібнена шинна гума, лігнін, малейований поліпропілен, нейлонові волокна або інші термопластичні волокна, а також фторовані полімери, наприклад, фторований поліетилен. Можна також використати поєднання перерахованих вище матеріалів.

Деякі матеріали є в продажу в функціоналізованому стані. Наприклад, вуглецеві нанотрубки, що містять карбоксильні функціональні групи, постачає на продаж, наприклад, фірма NanoLab (Ньютон, штат Массачусетс, США), і функціоналізовані силікагелі постачає на продаж фірма Isco, Inc.

Дані зернисті матеріали можуть мати частинки, розмір яких складає, наприклад, більше ніж 1 мікрон, наприклад, більше ніж 2 мкм, 5 мкм, 10 мкм, 25 мкм або навіть більше ніж 35 мкм. Інші фізичні властивості переважних субстратів будуть описані нижче.

Наповнювачі, що містять нанометрові частинки, можна також використати як індивідуально, так і в поєднанні з волокнистими матеріалами будь-якого розміру і/або форми. Ці наповнювачі можуть знаходитися, наприклад, у вигляді частинок, пластин або волокон. Наприклад, можна використати глини, кремнієвих і вуглецевих нанотрубки або фулерени, що містять нанометрові

частинки, а також кремнієві і вуглецеві наноніти. Наповнювач може мати поперечний розмір, що складає менше ніж 1000 нм, наприклад, менше ніж 900 нм, 800 нм, 750 нм, 600 нм, 500 нм, 350 нм, 300 нм, 250 нм, 200 нм, менше ніж 100 нм або навіть менше ніж 50 нм.

У деяких варіантах здійснення наноглина являє собою бентонітову глину (монтморилоніт). Такі глини постачають фірми Nanocor, Inc. і Southern Clay Products, і вони описані в патентах США № 6849680 і № 6737464. Поверхню глин можна обробляти перед змішуванням, наприклад, з полімером або волокнистим матеріалом. Наприклад, поверхню глини можна обробляти таким чином, що дана поверхня набуде іонної природи і стане, наприклад, катіонною або аніонною.

Можна також використати агреговані або агломеровані наповнювачі, що містять нанометрові частинки, або наповнювачі, що містять нанометрові частинки, які об'єднані в надмолекулярні структури, наприклад, самозбиральні надмолекулярні структури. Агреговані або надмолекулярні наповнювачі можуть мати відкриту або закриту структуру і приймати різноманітні форми, існуючи, наприклад, у вигляді клітини, трубки або сфери.

Суміші будь-яких субстратних матеріалів, описаних в даному документі, можна використати для виробництва будь-яких продуктів, описаних в даному документі.

Фіг. 1 представляє систему 100 для обробки субстратного матеріалу, наприклад, волокнистого або зернистого матеріалу, і подальшого використання обробленого матеріалу для прискорення процесу ферментації. Система 100 включає необов'язковий модуль 102, в якому субстратний матеріал функціоналізують, наприклад, опроміненням, окисненням, хімічною функціоналізацією або іншими способами. Якщо субстратний матеріал призначений для використання в своєму природному стані або був попередньо функціоналізований, дану стадію пропускають.

Оброблений субстратний матеріал, наприклад, функціоналізовані частинки або волокна, надходить в систему ферментації 106 за допомогою модуля 108, що подає субстрат. Субстратний матеріал можна подавати в будь-якій необхідній концентрації, що складає, наприклад, від приблизно 0,05 % до приблизно 20 %, від приблизно 0,1 % до приблизно 10 %, від приблизно 0,2 % до приблизно 6 % або від приблизно 0,3 % до приблизно 4 %. Концентрацію будуть частково визначати властивості використаного субстратного матеріалу і можлива кількість субстратного матеріалу, що додається практичним способом.

Функціоналізований субстратний матеріал потім присутній в процесі ферментації і прискорює процес ферментації, надаючи субстрат, який може взаємодіяти з мікроорганізмами, що використовуються в ферментації, наприклад, клітинами дріжджів. Ця взаємодія схематично представлена на фіг. 2, який зображує функціоналізоване полярне волокно 10 і дріжджову клітину 12, що має комплементарну полярну функціональну групу. Внаслідок полярності волокон і дріжджових клітин можлива іммобілізація клітини на одному або більшому числі волокон. Зв'язок дріжджової клітини (або іншого мікроорганізму) з волокнами може являти собою водневий зв'язок або ковалентний, або іонний зв'язок. У деяких випадках функціональні групи на волокнах можуть реагувати з функціональними групами на мікроорганізмі, утворюючи ковалентний зв'язок. Висока питома поверхня і пористість волокон забезпечує велику площу поверхні для взаємодії волокна і мікроорганізму і тим самим посилює цю взаємодію. іммобілізовані клітини є більш продуктивними, збільшуючи ефективність і вихід процесу ферментації і запобігання передчасному "застиганню" даного процесу.

Потрібно зазначити, що якщо в процесі ферментації здійснюють перемішування, то це перемішування переважно є відносно м'яким (низькозсувним), щоб скоротити до мінімуму порушення взаємодії між мікроорганізмами і волокнами. У деяких варіантах здійснення використовують струминне перемішування, як описано у тимчасових патентних заявках США № 61/179995 від 20 травня 2009 р. і № 61/218832 від 19 червня 2009 р., а також в патентній заявці США № (номер не вказаний), поданій одночасно з даною заявкою під реєстраційним номером патентного повіреного 00119-1US. Повний опис кожної з даних заявок включений в даний документ за допомогою посилання.

У варіанті здійснення, представленому на фіг. 1, при ферментації утворюється неочищена суміш на основі етанолу, яка втікає в резервуар для зберігання 110. Вода або інший розчинник, а також інші неетанольні компоненти відганяють з неочищеної суміші на основі, використовуючи відгінну колону 112, і етанол потім переганяють, використовуючи дистиляційний блок 114, наприклад, ректифікаційну колону. Нарешті, етанол можна сушити, використовуючи молекулярне сито 116, денатурувати по мірі необхідності і спрямовувати на транспортування бажаним способом.

У деяких випадках системи, описані в даному документі, або їх компоненти, можуть бути портативними, щоб систему можна було перевозити (наприклад, залізничним, автомобільним або водним транспортом) з одного місця в інше. Стадії способу, описаного в даному документі,

можна здійснювати в одному або декількох місцях, і в деяких випадках одну або більше стадій можна здійснювати в процесі транспортування. Така мобільна обробка описана в патентній заявці США № 12/374549 і в міжнародній патентній заявці № WO 2008/011598, повні описи яких включені в даний документ за допомогою посилання.

5 Як функціоналізовані субстратні матеріали, так і субстратні матеріали в своєму природному стані можуть мати фізичні властивості, що обговорюються в даному документі.

При використанні в даному документі середні значення ширини волокна (наприклад, діаметри) являють собою значення, визначені оптичним способом при випадковому виборі приблизно 5000 волокон. Середні значення довжини волокна являють собою виправлені
10 значення зваженої по довжині довжини. Значення питомої поверхні по методу BET являють собою багатоточкові значення питомої поверхні, і значення пористості являють собою значення, визначені методом ртутної порометрії.

Якщо субстрат являє собою волокнистий матеріал, середнє відношення довжини до діаметра волокон механічно обробленого субстратного матеріалу може складати, наприклад,
15 більше ніж 8/1, наприклад, більше ніж 10/1, більше ніж 15/1, більше ніж 20/1, більше ніж 25/1 або більше ніж 50/1. Середня довжина волокна може складати, наприклад, приблизно від 0,5 мм до 2,5 мм, наприклад, приблизно від 0,75 мм до 1,0 мм, і середня ширина (наприклад, діаметр) волокон може складати, наприклад, приблизно від 5 мкм до 50 мкм, наприклад, приблизно від 10 мкм до 30 мкм.

20 У деяких варіантах здійснення стандартне відхилення довжини волокон може складати менше ніж 60 % середньої довжини волокон, наприклад, менше ніж 50 % середньої довжини, менше ніж 40 % середньої довжини, менше ніж 25 % середньої довжини, менше ніж 10 % середньої довжини, менше ніж 5 % середньої довжини, або навіть менше ніж 1 % середньої довжини.

25 У деяких варіантах здійснення питома поверхня по методу BET субстратного матеріалу складає більше ніж 0,1 м²/г, наприклад, більше ніж 0,25 м²/г, 0,5 м²/г, 1,0 м²/г, 1,5 м²/г, 1,75 м²/г, 5,0 м²/г, 10 м²/г, 25 м²/г, 35 м²/г, 50 м²/г, 75 м²/г, 100 м²/г, 200 м²/г, 250 м²/г, 500 м²/г або навіть більше ніж 1000 м²/м.

Пористість субстратного матеріалу може складати, наприклад, більше ніж 20 %, більше ніж
30 25 %, більше ніж 35 %, більше ніж 50 %, більше ніж 60 %, більше ніж 70 %, наприклад, більше ніж 80 %, більше ніж 85 %, більше ніж 90 %, більше ніж 92 %, більше ніж 94 %, більше ніж 95 %, більше ніж 97,5 %, більше ніж 99 % або навіть більше ніж 99,5 %.

Гасіння і функціоналізація субстрату

35 У деяких випадках субстратний матеріал функціоналізують опроміненням. Можна також використати інші способи, які добре відомі в техніці, наприклад, окиснення або хімічну функціоналізацію. У деяких випадках функціоналізація субстратного матеріалу не є частиною процесу, наприклад, матеріал використовують в його природному стані, або його попередньо функціоналізує постачальник.

Після обробки іонізуючим випромінюванням субстратний матеріал стає іонізованим, тобто
40 матеріал включає радикали, які можна виявити за допомогою спектрометра електронного парамагнітного (спінового) резонансу. У даний час рівень практичного виявлення радикалів становить приблизно 10¹⁴ спінів при кімнатній температурі. Після іонізації матеріал можна гасити, щоб зменшити рівень радикалів в іонізованому матеріалі, наприклад, таким чином, щоб радикали перестали виявлятися за допомогою спектрометра електронного парамагнітного
45 резонансу. Наприклад, радикали можна гасити прикладанням достатнього тиску до біомаси і/або використанням в контакт з іонізованою біомасою текучого середовища, в тому числі газоподібного або рідкого, що вступає в реакцію (гасіння) з радикалами. Введення газу або рідини, щоб щонайменше сприяти гасінню радикалів, можна використати для функціоналізації іонізованої біомаси утворенням функціональних груп необхідної кількості і виду, включаючи
50 карбоксильні групи, енольні групи, альдегідні групи, нітрогрупи, нітрильні групи, аміногрупи, алкіламіногрупи, алкільні групи, хлоралкільні групи або хлорфторалкільні групи. Як обговорювалося вище, функціональні групи, впроваджені в матеріал при гасінні, можуть діяти як рецепторні центри для приєднання мікроорганізмів або ферментів.

Виявлення радикалів в опромінених зразках методами спектроскопії електронного
55 парамагнітного резонансу і терміни існування радикалів у вказаних зразках обговорюють в своїй статті Bartolotta і ін., Physics Medicine and Biology, 46(2001), 461-471 і in Bartolotta і ін., Radiation Protection Dosimetry (Дозиметрія радіаційного захисту), 1999 р. - т. 84, №№ 1-4. - С. 293-296.

У деяких варіантах здійснення гасіння включає прикладання тиску до іонізованого матеріалу, в тому числі за допомогою механічної деформації матеріалу, наприклад,
60 безпосереднього механічного стиснення матеріалу по одному, двом або трьом напрямкам, або

прикладанням тиску до текучого середовища, в яке занурений матеріал, використовуючи, наприклад, ізостатичне стиснення. У таких випадках сама деформація матеріалу виробляє радикали, які часто захоплюються в доменах кристалічної структури в досить тісній близькості один від одного, в результаті чого радикали можуть рекомбінувати або реагувати з іншою групою. У деяких випадках тиск прикладають разом з підведенням тепла, в тому числі достатньої кількості тепла для підвищення температури матеріалу вищої за температуру плавлення або температуру розм'якшення матеріалу або компонента матеріалу. Нагрівання може підвищувати рухливість молекул матеріалу, що може сприяти гасінню радикалів. Коли тиск використовують для гасіння, цей тиск може складати більше ніж приблизно 1000 фунтів на кв. дюйм (7 МПа), в тому числі більше ніж приблизно 1250 фунтів на кв. дюйм (8,75 МПа), 1450 фунтів на кв. дюйм (10,15 МПа), 3625 фунтів на кв. дюйм (25,38 МПа), 5075 фунтів на кв. дюйм (35,53 МПа), 7250 фунтів на кв. дюйм (50,75 МПа), 10000 фунтів на кв. дюйм (70 МПа) або навіть більше ніж 15000 фунтів на кв. дюйм (105 МПа).

У деяких варіантах здійснення гасіння включає контакт матеріалу з текучим середовищем, в тому числі рідким або газоподібним, наприклад, газом, здатним реагувати з радикалами, в тому числі ацетиленом або сумішшю ацетилену з азотом, етиленом, хлорованими етиленами або хлорфторетиленами, пропіленом або сумішшю цих газів. У інших певних варіантах здійснення гасіння включає контакт матеріалу з рідиною, наприклад, рідиною, яка розчиняється, або щонайменше здатна проникати в матеріал і реагувати з радикалами, в тому числі діеном, в тому числі 1,5-циклооктадіеном. У деяких особливих варіантах здійснення гасіння включає контакт радикала з антиоксидантом, в тому числі вітаміном Е.

Можливі і інші способи гасіння. Наприклад, будь-який спосіб гасіння радикалів в полімерних матеріалах, який описаний в патентній заявці США № 2008/0067724 (автори Muratoglu і ін.) і в патенті США № 7166650 (автори Muratoglu і ін.), можна використати для гасіння будь-якого іонізованого матеріалу, описаного в даному документі. Крім того, будь-який агент для гасіння (який Muratoglu визначив терміном "сенсibilізатор" у вказаних вище патентних документах) і/або будь-якого антиоксидант, описаний в будь-якому з документів Muratoglu, можна використати для гасіння будь-якого іонізованого матеріалу.

Функціоналізацію можна посилювати, використовуючи важкі заряджені іони, в тому числі будь-які з важких іонів, описаних в даному документі. Наприклад, якщо бажано прискорити окиснення, для опромінення можна використати заряджені іони кисню. Якщо бажані азотні функціональні групи, можна використати іони азоту або аніони, які включають азот. Аналогічним чином, якщо бажані групи, що містять сірку або фосфор, в опроміненні можна використати іони сірки або фосфору.

Після гасіння будь-якого з гашених матеріалів, описаних в даному документі, можна додатково обробляти, використовуючи один або більше видів випромінювання, в тому числі іонізуюче або неіонізуюче випромінювання, ультразвукову обробку, піроліз і окиснення для додаткової зміни молекулярної і/або надмолекулярної структури.

У деяких випадках субстратні матеріали можна обробляти пучком частинок в присутності одного або більше додаткових текучих середовищ (наприклад, газів і/або рідин). Вплив на матеріал пучком частинок в присутності одного або більше додаткових текучих середовищ може підвищувати ефективність обробки.

У деяких варіантах здійснення матеріал обробляють пучком частинок в присутності текучого середовища, в тому числі повітря. Прискорені частинки вилітають з прискорювача через вихідний отвір (наприклад, тонку мембрану, в тому числі металеву фольгу), проходять через об'єм простору, зайнятого текучим середовищем, і потім потрапляють на матеріал. Крім безпосередньої обробки матеріалу, деякі частинки утворюють також хімічні сполуки шляхом взаємодії з частинками текучого середовища (наприклад, іонами і/або радикалами, що утворюються з різних компонентів повітря, включаючи озон і оксиди азоту). Ці хімічні речовини, що утворюються, можуть також взаємодіяти з матеріалом; наприклад, будь-який окисник, що утворюється, може окиснювати матеріал.

У певних варіантах здійснення додаткові текучі середовища можна вибірково вводити на шляху пучка частинок перед потраплянням пучка на матеріал. Як обговорювалося вище, реакції між частинками пучка і частинками текучих середовищ, що вводяться, можуть утворювати додаткові хімічні сполуки, які реагують з матеріалом і можуть сприяти функціоналізації матеріалу, і/або іншим чином вибірково змінювати певні властивості матеріалу. Одне або більше додаткових текучих середовищ можна спрямовувати на шлях пучка, наприклад, з живильної труби. Напрямок і швидкість руху текучого середовища, що вводиться (текучих середовищ), можна вибирати відповідно до необхідної потужності дози і/або напрямку обробки, щоб регулювати ефективність всієї обробки, включаючи ефекти, які виникають в результаті

обробки на основі частинок, і ефекти, які зумовлені взаємодією частинок, що динамічно утворюються від введення текучого середовища з матеріалом. Крім повітря, приклади текучих середовищ, які можна вводити в іонні пучки, включають кисень, азот, один або більше благородних газів, один або більше галогенів і водень.

Випромінюванням можна впливати на матеріал, який є сухим або мокрим, або навіть диспергованим в рідині, включаючи воду, і його можна використати в той час, коли матеріал знаходиться в атмосфері повітря, збагаченого киснем повітря або навіть чистого кисню, або покритий шаром інертного газу, в тому числі азоту, аргону або гелію. Коли переважне максимальне окиснення, використовують окиснювальне середовище, в тому числі повітря або кисень.

Випромінювання можна застосовувати під тиском, що складає більше ніж приблизно 2,5 атмосфери, в тому числі більше ніж 5, 10, 15, 20 або навіть більше ніж приблизно 50 атмосфер (відповідно, 0,25, 5, 1, 1,5, 2 або 5 МПа).

У деяких варіантах здійснення для опромінення матеріалів використовують вплив на матеріал енергії, яка вибиває електрон з його атомної орбіталі. Випромінювання можуть створювати: 1) важкі заряджені частинки, в тому числі альфа-частинки або протони, 2) електрони, що утворюються, наприклад, при бета-розпаді або в прискорювачах електронних пучків, або 3) електромагнітне випромінювання, наприклад, гамма-випромінювання, рентгенівське випромінювання або ультрафіолетове випромінювання. У одному підході випромінювання, що створюється радіоактивними речовинами, можна використати для опромінення вихідного матеріалу. У деяких варіантах здійснення можна використати будь-яке поєднання випромінювання за пп. (1)-(3) в будь-якому порядку або одночасно. У іншому підході можна використати електромагнітне випромінювання (наприклад, отримане за допомогою випромінювачів електронних пучків) для опромінення вихідного матеріалу. У деяких випадках, коли переважно здійснити розщеплення ланцюга і/або функціоналізацію полімерного ланцюга, можна використати важчі частинки, ніж електрони, в тому числі протони, ядра гелію, іони аргону, іони кремнію, іони неону, іони вуглецю, іони фосфору, іони кисню або іони азоту. Коли переважне розщеплення ланцюга з розкриттям циклу, можна використати позитивно заряджені частинки внаслідок їх властивостей кислоти Льюїса для прискорення розщеплення ланцюга з розкриттям циклу. Наприклад, коли переважні кисеньовмісні функціональні групи, можна здійснювати опромінення в присутності кисню або навіть опромінення іонами кисню. Наприклад, коли бажані азотовмісні функціональні групи, можна здійснювати опромінення в присутності азоту або навіть опромінення іонами азоту.

Кожний вигляд випромінювання іонізує вуглецевмісний матеріал за допомогою певної взаємодії, яку визначає енергія випромінювання. Важкі заряджені частинки іонізують речовину, головним чином, за допомогою кулонівського розсіювання; крім того, в цих взаємодіях утворюються високоенергетичні електрони, які можуть додатково іонізувати речовину. Альфа-частинки являють собою ядра атомів гелію і утворюються при альфі-розпаді ядер різних радіоактивних елементів, включаючи ізотопи вісмуту, полонію, астату, радону, францію, радію, ряду актинідів, включаючи актиній, торій, уран, нептуній, кюрій, каліфорній, америцій і плутоній.

Коли використовують частинки, вони можуть бути нейтральними (незарядженими), позитивно зарядженими або негативно зарядженими. Коли частинки є зарядженими, вони можуть нести одиничний позитивний або негативний заряд або кратні заряди, наприклад, одиничний, подвійний, потрійний або навіть почетверений або вищі заряди. У тих випадках, де переважне розщеплення ланцюга, доцільні позитивно заряджені частинки, частково внаслідок своєї кислотної природи. Коли використовують частинки, ці частинки можуть мати масу спокою електрона або вищу масу, яка, наприклад, в 500, 1000, 1500 або 2000 або більше разів перевищує масу спокою електрона. Наприклад, частинки можуть мати масу, що складає від приблизно 1 атомних одиниць до приблизно 150 атомних одиниць, наприклад, від приблизно 1 атомних одиниць до приблизно 50 атомних одиниць, або від приблизно 1 до приблизно 25, наприклад, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 12 або 15 атомних одиниць. Прискорювачі, що використовуються для прискорення частинок, можуть являти собою електростатичні прискорювачі постійного струму, електродинамічні прискорювачі постійного струму, радіочастотні лінійні, магнітно-індукційні лінійні або безперервно-хвильові пристрої. Наприклад, прискорювачі типу циклотрона постачає фірма IBA (Бельгія), включаючи систему Rhodotron®, в той час як прискорювачі постійного струму постачає фірма RDI (в даний час IBA Industrial), включаючи Dynamitron®. Іони і іонні прискорювачі обговорюються в роботах Introductory Nuclear Physics (Введення в ядерну фізику), автор Kenneth S. Krane, видавництво John Wiley & Sons, Inc., 1988 p.; Krsto Prelec, Fizika B6, 1997 p. - т. 4. - С. 177-206; Chu, William T., Overview of Light-ion Beam Therapy (Огляд по терапії пучків легких іонів), конференція ICRU-IAEA, Колумбус, штат Огайо, 18-20 березня 2006

p.; Iwata, Y. i ін., Alternating-Phase-Focused IH-DTL for Heavy-ion Medical Accelerators (Сфокусований прогінно-трубчастий лінійний прискорювач типу Н з фазами, що чергуються, для медичних прискорювачів важких іонів), матеріали EP AC 2006 p., Единбург (Шотландія); i Leaner, C. M. i ін., Status of the Superconducting ECR Ion Source VENUS (Стан надпровідного електронного циклотронного резонансного джерела іонів VENUS), матеріали EP AC 2000 p., Відень (Австрія).

Гамма-випромінювання має перевагу значної глибини проникнення в різноманітні матеріали. Джерела гамма-випромінювання включають ядра радіоактивних елементів, в тому числі ізотопи кобальту, кальцію, технецію, хрому, галію, індію, йоду, заліза, криптону, самарію, селену, натрію і ксенону.

Джерела рентгенівського випромінювання включають зіткнення електронних пучків з металевими мішенями, виготовленими, в тому числі, з вольфраму або молібдену або сплавів, або компактні джерела світла, в тому числі ті, які виробляє фірма Lyncean.

Джерела ультрафіолетового випромінювання включають дейтерієві або кадмієві лампи. Джерела інфрачервоного випромінювання включають керамічні лампи з вікном з сапфіру, цинку або селеніду.

Джерела мікрохвильового випромінювання включають клістри, радіочастотні джерела типу Сльовіна (Slevin) або джерела атомних пучків, які використовують гази, в тому числі водень, кисень або азот.

У деяких варіантах здійснення пучок електронів використовують як джерело випромінювання. Пучок електронів має переваги високої потужності дози (наприклад, 1, 5 або навіть 10 Мрад в секунду), високої продуктивності, меншого об'єму і меншого вмісту обладнання. Електрони можуть також виявитися більш ефективними в реакціях розщеплення ланцюга. Крім того, електрони, що мають енергію від 4 до 10 МеВ, можуть мати глибину проникнення від 5 до 30 мм або більшу, в тому числі 40 мм.

Електронні пучки можна створювати, використовуючи, наприклад, електростатичні генератори, каскадні генератори, генератори-трансформатори, низькоенергетичні прискорювачі з системою сканування, низькоенергетичні прискорювачі з лінійним катодом, лінійні прискорювач і імпульсні прискорювачі. Електрони як джерело іонізуючого випромінювання можуть бути корисні, наприклад, для відносно тонких зрізів матеріалу, наприклад, менше ніж 0,5 дюйма, наприклад, менше ніж 0,4 дюйма, 0,3 дюйма, 0,2 дюйма або менше ніж 0,1 дюйма (12,7, 10,16, 7,62, 5,08 або 2,54 мм, відповідно). У деяких варіантах здійснення енергія кожного електрона в електронному пучку складає від приблизно 0,3 МеВ до приблизно 2,0 МеВ (мільйонів електрон-вольт), наприклад, від приблизно 0,5 МеВ до приблизно 1,5 МеВ або від приблизно 0,7 МеВ до приблизно 1,25 МеВ. Пристрої для опромінення електронними пучками можуть серійно виробляти фірми Ion Beam Applications, (Лувен-ла-Нев, Бельгія) або Titan Corporation (Сан-Дієго, штат Каліфорнія). Звичайно енергії електронів становлять 1 МеВ, 2 МеВ, 4,5 МеВ, 7,5 МеВ або 10 МеВ. Звичайно потужність пристрою для опромінення електронним пучком становить 1 кВт, 5 кВт, 10 кВт, 20 кВт, 50 кВт, 100 кВт, 250 кВт або 500 кВт. Рівень деполімеризації вихідного матеріалу залежить від енергії використовуваних електронів і застосовуваної дози в той час як час опромінення залежить від потужності і дози. Звичайно дози приймають значення, що становлять 1 кГр (кілогрей), 5 кГр, 10 кГр, 20 кГр, 50 кГр, 100 кГр або 200 кГр.

Можна використати важчі частинки, ніж електрони, щоб опромінювати будь-який з матеріалів біомаси, описаних в даному документі. Наприклад, можна використати протони, ядра гелію, іони аргону, іони кремнію, іони неону, іони вуглецю, іони фосфору, іони кисню або іони азоту. У деяких варіантах здійснення частинки важчі за електрони можуть спричиняти більш значне розщеплення ланцюга (в порівнянні з частинками меншої маси). У деяких випадках позитивно заряджені частинки можуть проводити більш значне розщеплення ланцюга, ніж негативно заряджені частинки, внаслідок своєї кислотності. Пучок важчих частинок можна створювати, наприклад, використовуючи лінійні прискорювачі або циклотрони. У деяких варіантах здійснення енергія кожної частинки в пучку становить 1,0 МеВ/ат.од. до приблизно 6000 МеВ/ат.од., наприклад, від приблизно 3 МеВ/ат.од. до приблизно 4,800 МеВ/ат.од. або від приблизно 10 МеВ/ат.од. до приблизно 1000 МеВ/ат.од. (атомна одиниця).

У певних варіантах здійснення іонні пучки, що використовуються для опромінення вуглецьвмісних матеріалів, наприклад, матеріалу біомаси, можуть включати іони більше ніж одного типу. Наприклад, іонні пучки можуть включати суміші іонів двох або більше (наприклад, трьох, чотирьох або більше) різних типів. Зразкові суміші можуть включати іони вуглецю і протони, іони вуглецю і іони кисню, іони азоту і протони, і іони заліза і протони. У більш загальному випадку суміші будь-яких вказаних вище іонів (або будь-яких інших іонів) можна

використати для створення опромінюючих іонних пучків. Зокрема, суміші відносно легких і відносно важких іонів можна використати в одних іонних пучках.

У деяких варіантах здійснення іонні пучки для опромінення матеріалів включають позитивно заряджені іони. Позитивно заряджені іони можуть включати, наприклад, позитивно заряджені іони водню (наприклад, протони), іони інертних газів (включаючи, наприклад, гелій, неон, аргон), іони вуглецю, іони азоту, іони кисню, іони кремнію, іони фосфору і іони металів, в тому числі іони натрію, іони кальцію і/або іони заліза. Без наміру слідувати якій-небудь теорії вважають, що вказані позитивно заряджені іони виявляють хімічні властивості кислот Льюїса при впливі на матеріали, ініціюючи і підтримуючи реакції катіонного розщеплення ланцюга з розкриттям циклу в окиснювальному середовищі.

У певних варіантах здійснення іонні пучки для опромінення матеріалів включають негативно заряджені іони. Негативно заряджені іони можуть включати, наприклад, негативно заряджені іони водню (наприклад, гідрид-іони) і негативно заряджені іони різних відносно електронегативних ядер (наприклад, іони кисню, іони азоту, іони вуглецю, іони кремнію і іони фосфору). Без наміру слідувати якій-небудь теорії вважають, що такі негативно заряджені іони виявляють хімічні властивості основ Льюїса при впливі на матеріали, ініціюючи і підтримуючи реакції катіонного розщеплення ланцюга з розкриттям циклу у відновному середовищі.

У деяких варіантах здійснення пучки для опромінення матеріалів можуть включати нейтральні атоми. Наприклад, пучки, що містять будь-який один або більше видів атомів з числа, до яких належать атоми водню, атоми гелію, атоми вуглецю, атоми азоту, атоми кисню, атоми неону, атоми кремнію, атоми фосфору, атоми аргону і атоми заліза, використовують для опромінення матеріалу біомаси. Як правило, в пучках можуть бути присутніми суміші атомів двох або більше типів (наприклад, трьох або більше, чотирьох або більше, або ще більше типів).

У певних варіантах здійснення іонні пучки, що використовуються для опромінення матеріалів, включають іони з одиничним зарядом, в тому числі один або більше з іонів H^+ , H , He^+ , Ne^+ , Ar^+ , C^+ , C , O^+ , O^- , N^+ , N , Si^+ , Si^- , P^+ , P^- , Na^+ , Ca^+ і Fe^+ . У деяких варіантах здійснення іонні пучки можуть включати іони з кратними зарядами, в тому числі один або більше з іонів C^{2+} , C^{3+} , C^{4+} , N^{3+} , N^{5+} , N^{3-} , O^{2+} , O^{2-} , O_2^{2+} , Si^{2+} , Si^{4+} , Si^{2-} і Si^{4-} . Як правила, іонні пучки можуть також включати більш складні багатоядерні іони, які несуть кратні позитивні або негативні заряди. У певних варіантах здійснення, внаслідок структури багатоядерного іона, позитивні або негативні заряди можуть ефективно розподілятися по практично всій структурі іонів. У деяких варіантах здійснення позитивні або негативні заряди можуть в деякій мірі локалізуватися на частинах структури іонів.

Електромагнітне випромінювання

У варіантах здійснення, в яких опромінення здійснюють за допомогою електромагнітного випромінювання, електромагнітне випромінювання може мати, наприклад, енергію на фотон (в електроні-вольтах), що складає більше ніж 10^2 еВ, наприклад, більше ніж 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 або навіть більше ніж 10^7 еВ. У деяких варіантах здійснення електромагнітне випромінювання має енергію на фотон, що складає від 10^4 до 10^7 , наприклад, від 10^5 до 10^6 еВ. Електромагнітне випромінювання може мати частоту, що складає, наприклад, більше ніж 10^{16} Гц, більше ніж 10^{17} Гц, 10^{18} , 10^{19} , 10^{20} або навіть більше ніж 10^{21} Гц. У деяких варіантах здійснення електромагнітне випромінювання має частоту, що складає від 10^{18} до 10^{22} Гц, наприклад, від 10^{19} до 10^{21} Гц.

Дози

У деяких випадках опромінення здійснюють при потужності дози, що складає більше ніж приблизно 0,25 Мрад на секунду, наприклад, більше ніж приблизно 0,5, 0,75, 1,0, 1,5, 2,0 або навіть більше ніж приблизно 2,5 Мрад на секунду. У деяких варіантах здійснення опромінення здійснюють при потужності дози, що складає від 5,0 і 1500,0 кілорад/год., наприклад, від 10,0 до 750,0 кілорад/год. або від 50,0 до 350,0 кілорад/год.

У деяких варіантах здійснення опромінення (при використанні будь-якого джерела випромінювання або поєднання джерел) здійснюють доти, доки матеріал не отримає дозу, що становить щонайменше 0,1 Мрад щонайменше 0,25 Мрад, наприклад щонайменше 1,0 Мрад щонайменше 2,5 Мрад щонайменше 5,0 Мрад щонайменше 10,0 Мрад щонайменше 60 Мрад або щонайменше 100 Мрад. У деяких варіантах здійснення опромінення здійснюють доти, доки матеріал не отримає дозу, що складає від приблизно 0,1 Мрад до приблизно 500 Мрад, від приблизно 0,5 Мрад до приблизно 200 Мрад, від приблизно 1 Мрад до приблизно 100 Мрад або від приблизно 5 Мрад до приблизно 60 Мрад. У деяких варіантах здійснення застосовують відносно низьку дозу опромінення, що складає, наприклад, менше ніж 60 Мрад.

Піроліз, окиснення і хімічна функціоналізація

Функціоналізацію можна також здійснювати іншими способами, наприклад, піролізом і/або окисненням. Піроліз і окиснення біомаси детально описані в патентній заявці США № 12/417840, опис якої включено за допомогою посилання в даний документ. У деяких випадках можна використати аналогічні способи відносно субстратних матеріалів, описаних в даному документі.

Способи функціоналізації неорганічних матеріалів добре відомі в техніці. Приклади таких способів включають методики, описані в статтях Soluble Carbon Nanotubes (Розчинні вуглецеві нанотрубки), автори Tasis і ін., Chem. Eur. J. (Хімічний європейський журнал), 2003 р. - т. 9. - С. 4000-4008, і Entrapping Enzyme in a Functionalized Nanoporous Support (Впровадження ферменту в функціоналізовану нанопористу підкладку), J. Am. Chem. Soc. (Журнал Американського хімічного суспільства), 2002 р. - т. 124. - С. 11242-11243, тексти яких включені за допомогою посилання в даний документ.

Ультразвукова обробка

У деяких випадках матеріал можна також піддавати ультразвуковій обробці, наприклад, щоб збільшити пористість, наприклад, використовуючи системи ультразвукової обробки, описані в патентній заявці США № 12/417840, включеній в даний документ за допомогою приведеного вище посилання.

Інші процеси

Функціоналізацію можна здійснювати, використовуючи інші способи, наприклад, хімічну функціоналізацію. У деяких випадках можна використати, наприклад, хімічні реакції типу реакції Фентона (Fenton), як описано, наприклад, в патентній заявці США № 61/147377, повний текст якої включений в даний документ за допомогою посилання.

Біопроцеси з використанням субстратних матеріалів

Оцукрювання

Субстратні матеріали, описані в даному документі, можна використати для прискорення реакції оцукрювання. При оцукрюванні целюлозу у вихідному матеріалі, наприклад, матеріалі біомаси, гідролізують з отриманням низькомолекулярних вуглеводів, в тому числі цукрів, під дією оцукрювального агента, наприклад, ферменту. Матеріали, які включають целюлозу, обробляють ферментом, наприклад, поєднанням матеріалу і ферменту в рідкому середовищі, наприклад, у водному розчині.

Цю реакцію можна прискорювати іммобілізацією ферменту або іншого оцукрювального агента на субстратному матеріалі, описаному в даному документі.

Ферменти і знищуючі біомасу організми, які розкладають біомасу, включаючи в тому числі целюлозні і/або лігнінові компоненти біомаси, містять або виробляють різні целюлітичні ферменти (целюлази), лігнінази або різні низькомолекулярні знищуючі біомасу метаболіти. Ці ферменти можуть являти собою комплекс ферментів, які надають синергетичну дію, розкладаючи кристалічні целюлозні або лігнінові компоненти біомаси. Приклади целюлітичних ферментів включають: ендоглюканази, целобіогідролази і целобіази (β - глюкозидази). У процесі оцукрювання целюлозний субстрат спочатку гідролізується у випадкових положеннях, утворюючи олігомерні проміжні продукти. Ці проміжні продукти стають потім субстратами для розщеплюючих екzogлюканаз, включаючи целобіогідралазу, які утворюють целобіозу з кінцевих ланок целюлозного полімеру. Целобіоза являє собою водорозчинний 1,4-зв'язаний димер глюкози. Нарешті, целобіаза розщеплює целобіозу з утворенням глюкози.

Целюлоза здатна розкладати біомасу і може бути грибового або бактеріального походження. Прийнятні ферменти включають целюлази родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Humicola*, *Fusarium*, *Thielavia*, *Acremonium*, *Chrysosporium* і *Trichoderma* і включають види *Humicola*, *Coprinus*, *Thielavia*, *Fusarium*, *Myceliophthora*, *Acremonium*, *Cephalosporium*, *Scytalidium*, *Penicillium* або *Aspergillus* (див., наприклад, європейський патент № 458162), зокрема, отримані вибором штамів з видів *Humicola insolens* (перекласифікований як *Scytalidium thermophilum*, див., наприклад, патент США № 4435307), *Coprinus cinereus*, *Fusarium oxysporum*, *Myceliophthora thermophila*, *Meripilus giganteus*, *Thielavia terrestris*, видів *Acremonium*, включаючи *Acremonium persicinum*, *Acremonium acremonium*, *Acremonium brachyphenium*, *Acremonium dichromosporum*, *Acremonium obclavatum*, *Acremonium pinkertoniae*, *Acremonium roseogriseum*, *Acremonium incoloratum* і *Acremonium furatum*; переважно з видів *Humicola insolens* DSM 1800, *Fusarium oxysporum* DSM 2672, *Myceliophthora thermophila* CBS 117.65, вид *Cephalosporium* RYM-202, вид *Acremonium* CBS 478.94, вигляд *Acremonium* CBS 265.95, *Acremonium persicinum* CBS 169.65, *Acremonium acremonium* AHU 9519, вид *Cephalosporium* CBS 535.71, *Acremonium brachyphenium* CBS 866.73, *Acremonium dichromosporum* CBS 683.73, *Acremonium obclavatum* CBS 311.74, *Acremonium pinkertoniae* CBS 157.70, *Acremonium roseogriseum* CBS 134.56, *Acremonium incoloratum* CBS 146.62 і *Acremonium furatum* CBS 299.70H. Целюлітичні ферменти можна також отримувати з *Chrysosporium*, переважно штаму *Chrysosporium lucknowense*. Крім

того, можна використати *Trichoderma* (зокрема, *Trichoderma viride*, *Trichoderma reesei* і *Trichoderma koningii*), алкалофільні бацили (див., наприклад, патент США № 3844890 і європейський патент № 458162) і *Streptomyces* (див., наприклад, європейський патент № 458162).

5 Прийнятні целобіази включають целобіазу з *Aspergillus niger*, що продається під торговим найменуванням NOVOZYME 188™.

Можна використати комплексні ферменти, в тому числі ті, які постачає фірма Genencor під торговим найменуванням ACCELLERASE®, наприклад, комплексний фермент Accellerase® 1500. Комплексний фермент Accellerase® 1500 має багатофункціональну ферментативну активність, діючи, головним чином, як екзоглюканаза, ендоглюканаза (2200-2800 одиниць СМС/г), гемі-целюлаза і β - глюкозидаза (525-775 одиниць рNPG/г), і має значення рН від 4,6 до 5,0. Активність комплексного ферменту як ендоглюканази виражена в одиницях активності відносно карбоксиметилцелюлози (одиниці СМС), в той час як його активність як β - глюкозидази виражена в одиницях активності відносно пара-нітрофеніл-пара-О-глюкопіранозиду (одиниці рNPG). У одному варіанті здійснення використовують суміш комплексного ферменту Accellerase® 1500 і целобіази NOVOZYME™ 188.

Процес оцукрювання можна частково або повністю здійснювати в резервуарі (наприклад, в резервуарі, що має об'єм, який становить щонайменше 4000, 40000 або 400000 л), на виробничому підприємстві, і/або можна частково або повністю здійснювати в процесі перевезення, наприклад, в залізничній цистерні, автомобільній цистерні або в резервуарі великої ємності або трюмі судна. Час, необхідний для повного оцукрювання, буде залежати від умов процесу і використовуваного вихідного матеріалу і ферменту. Якщо оцукрювання здійснюють на виробничому підприємстві в контрольованих умовах целюлозу можна практично повністю перетворити в глюкозу протягом приблизно 12-96 годин. Якщо оцукрювання здійснюють частково або повністю в процесі перевезення, оцукрювання може займати більш тривалий час. Додавання поверхнево-активних речовин може підвищувати швидкість оцукрювання. Приклади поверхнево-активних речовин включають неіонні поверхнево-активні речовини, в тому числі поверхнево-активні речовини на основі поліетиленгліколю Tween® 20 або Tween® 80, іонні поверхнево-активні речовини або амфотерні поверхнево-активні речовини.

Як правило, переважно, щоб концентрація отриманого розчину глюкози була відносно високою, наприклад, більшою ніж 40 мас. %, або більшою ніж 50, 60, 70, 80, 90 або навіть більшою ніж 95 мас. %. Це зменшує об'єм, що перевозиться, і також інгібує ріст мікробів в розчині. Однак можна використати і менш високі концентрації, і в такому випадку може виявитися переважним введення антимікробної добавки, наприклад, антибіотики широкої дії, в низькій концентрації, наприклад, від 50 до 150 м. ч. Інші прийнятні антибіотики включають амфотерицин В, ампіцилін, хлорамфенікол (левоміцетин), ципрофлоксацин, гентаміцин, гігromіцин В, канаміцин, неомицин, пеніцилін, пуроміцин, стрептоміцин. Антибіотики будуть інгібувати ріст мікроорганізмів під час транспортування і зберігання, і їх можна використати у відповідних концентраціях, що складають, наприклад, від 15 до 1000 мас. м. ч., наприклад, від 25 до 500 м. ч. або від 50 до 150 м. ч. За необхідності антибіотик можна додавати, навіть якщо концентрація цукру відносно висока.

Розчин відносно високої концентрації можна отримати обмеженням кількості води, що додається у вихідний матеріал з ферментом. Концентрацію можна регулювати, наприклад, регулюючи ступінь, в якому здійснюється оцукрювання. Наприклад, концентрацію можна збільшувати додаванням в розчин більшої кількості вихідного матеріалу. Щоб утримувати в розчині цукри, що утворюється, можна додавати поверхнево-активну речовину, наприклад, одну з тих, які обговорюються вище. Розчинність можна також підвищувати збільшенням температури розчину. Наприклад, розчин можна витримувати при температурі, що становить 40-50 °C, 60-80 °C або навіть вище.

Ферментація

Мікроорганізми можуть проводити ряд корисних проміжних і кінцевих продуктів, в тому числі ті, які описані в даному документі, ферментацією низькомолекулярного цукру в присутності функціоналізованого матеріалу біомаси. Наприклад, в ході ферментації або інших біопроцесів можна отримувати спирти, органічні кислоти, вуглеводні, водень, білки або суміші будь-яких даних матеріалів.

Мікроорганізм може являти собою природний мікроорганізм або генетично модифікований мікроорганізм. Наприклад, мікроорганізм може являти собою бактерію, наприклад, целюлітичну бактерію, грибок, наприклад, дріжджі, рослину або протист, наприклад, водорість, найпростіше

або грибоподібний протист, наприклад, слизивик (міксоміцет). Коли організми є сумісними, можна використати суміші організмів.

Прийнятні для ферментації мікроорганізми мають здатність конвертувати вуглеводи, в тому числі глюкозу, ксилозу, арабінозу, манозу, галактозу, олігосахариди або полісахариди, в продукти ферментації. Ферментувати мікроорганізми включають штами роду *Saccharomyces* (цукрові грибки), наприклад, види *Saccharomyces cerevisiae* (пекарські дріжджі), *Saccharomyces distaticus*, *Saccharomyces uvarum*; під *Kluyveromyces*, наприклад, види *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces fragilis*; під *Candida* (кандида), наприклад, *Candida pseudotropicalis*, *Candida brassicae*, *Pichia stipitis* (родич *Candida shehatae*), під *Clavispora*, наприклад, види *Clavispora lusitaniae* і *Clavispora opuntiae*, під *Pachysolen*, наприклад, види *Pachysolen tannophilus*, під *Bretanomyces*, наприклад, види *Bretanomyces clausenii* (Philippidis G.P., розділ *Cellulose Bioconversion Technology* (Технологія біоконверсії целюлози) в книзі *Handbook on Bioethanol: Production and Utilization* (Довідник по біоетанолу: виробництво і застосування), під ред. Wyman C.E., видавництво Taylor & Francis, Вашингтон, округ Колумбія, 1996 р. - С. 179-212).

Дріжджі, що є в продажу, включають, наприклад, Red Star/Lesaffre Ethanol Red, постачальник Red Star/Lesaffre (США); FALI®, постачальник Fleischmann's Yeast, відділення фірми Burns Philip Food Inc. (США); SUPERSTART®, постачальник Alltech, в даний час Lalemand; GERT STRAND®, постачальник Gert Strand AB (Швеція); і FERMOL®, постачальник DSM Specialties.

У ферментації можна також використати бактерії, наприклад, *Zymomonas mobilis* і *Clostridium thermocellum* (Philippidis, 1996 р., див. вище).

Оптимальне значення рН для дріжджів складає приблизно від 4 до 5, в той час як оптимальне значення рН для бактерій *Zymomonas* складає приблизно від 5 до 6. Типові терміни ферментації складають приблизно від 24 до 96 годин при температурі в інтервалі від 26 °С до 40 °С, однак термофільні мікроорганізми віддають перевагу вищим температурам.

У деяких варіантах здійснення процесу ферментації можна переривати повністю або частково, перш ніж низькомолекулярний цукор буде повністю конвертований в етанол. Проміжні продукти ферментації включають висококонцентровані цукри і вуглеводи. Ці проміжні продукти ферментації можна використати в приготуванні їжі для людини або тварин. Додатково або як альтернатива, проміжні продукти ферментації можна молоти, отримуючи дрібнодисперсні частинки, використовуючи лабораторний млин з неіржавіючої сталі і отримуючи схожий на борошно матеріал.

Можна використати мобільні ферментери, які описані у тимчасовій патентній заявці США № 60/832735 і в опублікованій в даний час міжнародній патентній заявці № WO 2008/011598.

Подальша обробка

Дистиляція

Після ферментації отримані текучі середовища можна дистилювати, використовуючи, наприклад, "бражну колону", щоб відділити етанол і інші спирти від води, що складає основну масу, і залишкової твердої фази. Пара, що виходить з колони, може містити, наприклад, 35 мас. % етанолу і може надходити в ректифікаційну колону. Майже азеотропну суміш (92,5 %) етанолу і води з ректифікаційної колони можна очищати і отримувати чистий (99,5 %) етанол, використовуючи парофазні молекулярні сита. Донні осади з бражної колони можна спрямовувати на першу стадію тристадійного випарника. Дефлегматор ректифікаційної колони може забезпечувати тепло для цієї першої стадії. Після першої стадії тверду фазу можна відділяти за допомогою центрифуги і сушити в роторній сушарці. Частину текучого середовища (25 %), що виходить з центрифуги, можна повертати на ферментацію, а залишок спрямовувати на другу і третю стадію випарника. Велику частину конденсату з випарника можна повертати в процес у вигляді досить чистого конденсату, а невелику частину відділяти для обробки стічної води, щоб запобігти утворенню низькокиплячих сполук.

Проміжні і кінцеві продукти

Способи, описані в даному документі, можна використати для виробництва одного або більше проміжних або кінцевих продуктів, включаючи енергію, паливо, харчові продукти і матеріали. Конкретні приклади продуктів включають, але не обмежуються цим, водень, спирти (наприклад, одноатомні спирти або двоатомні спирти, в тому числі етанол, н-пропанол або н-бутанол), гідратовані або водні спирти, наприклад, що містять більше ніж 10 %, 20 %, 30 % або навіть більше ніж 40 % води, ксиліт, цукри, біодизельне паливо, органічні кислоти (наприклад, оцтова кислота і/або молочна кислота), вуглеводні, супутні продукти (наприклад, білки, в тому числі целюлітичні білки (ферменти) або генетично однорідні білки) і суміші будь-яких даних продуктів в будь-яких поєднаннях або відносних концентраціях, і необов'язково в поєднанні з будь-якими добавками, включаючи, наприклад, паливні добавки. Інші приклади включають

карбонові кислоти, в тому числі оцтову кислоту або масляну кислоту, солі карбонових кислот, суміші карбонових кислот і солей карбонових кислот, складні ефіри карбонових кислот (наприклад, метилові, етилові і н-пропілові складні ефіри), кетон (наприклад, ацетон), альдегіди (наприклад, ацетальдегід), α , β -ненасичені кислоти, в тому числі акрилову кислоту, і олефіни, в

5 тому числі етилен. Інші спирти і похідні спиртів включають пропанол, пропіленгліколь, 1,4-бутандіол, 1,3-пропандіол, метилові або етилові прості ефіри даних спиртів. Інші продукти включають метилакрилат, метилметакрилат, молочну кислоту, пропіонову кислоту, масляну кислоту, бурштинову кислоту, 3-гідроксипропіонову кислоту, солі будь-яких даних кислот і суміші будь-яких кислот і відповідних солей.

10 Інші проміжні і кінцеві продукти, включаючи продукти харчування і фармацевтичні вироби описані, в патентній заявці США № 12/417900, повний опис якої включений за допомогою посилання в даний документ.

Інші варіанти здійснення

Описаний ряд варіантів здійснення даного винаходу. Проте буде зрозуміло, що можна виробити різні модифікації без відхилення від суті і виходу за межі об'єму даного винаходу.

15 Наприклад, волокна можуть бути присутнім в будь-якій необхідній формі і можуть мати ряд різноманітних морфологій. Як правило, переважно, щоб целюлозні матеріали мали високу питому поверхню. У деяких випадках волокна можна впроваджувати в одношарові або багатшарові листи; наприклад, волокна можуть являти собою частину вискоєфективного

20 сухого повітряного пилового фільтра (HEPA) або подібних виробів. Листовий матеріал може мати питому поверхню, що складає, наприклад, приблизно від 1 до 500 м²/м. Волокнистий матеріал може бути накладним, наприклад, отриманим аеродинамічним способом з розплаву, складчастим, у вигляді сітки або решітки, або виготовленим в іншій геометрії. Волокна можуть бути екструдованими або спільно екструдованими.

25 Волокна можуть мати будь-який необхідний розмір частинок, від нанорозміру, що складає, наприклад, менше ніж приблизно 1000 нм, наприклад, менше ніж 500 нм, 250 нм, 100 нм, 50 нм, 25 нм або навіть менше ніж 1 нм, до крупніших частинок, розмір яких складає, наприклад, більше ніж 100 мкм, 200 мкм, 500 мкм або навіть 1000 мкм, або агрегатів частинок.

30 Волокна або волокнистий матеріал, що містить волокна, можна попередньо обробляти мікроорганізмом і/або ферментом, і/або волокна або волокнистий матеріал можна приводити в контакт з мікроорганізмом і/або ферментом в ході біопроцесу, включаючи оцукрювання або ферментацію.

35 Хоча неорганічні і синтетичні субстратні матеріали обговорювалися в даному документі, дані матеріали можна використати в поєднанні з іншими субстратними матеріалами, наприклад, субстратами біомаси, описаними у тимчасовій патентній заявці США № 61/252293, поданій 16 жовтня 2009 р., повний опис якої включений в даний документ за допомогою посилання.

Як обговорювалося вище, ферменти можна іммобілізувати на волокнах замість мікроорганізмів або разом з ними.

Відповідно, інші варіанти здійснення знаходяться в межах наступної формули винаходу.

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

1. Ферментаційна суміш, яка включає:

45 неорганічний матеріал у формі частинок або волокон, і зазначений неорганічний матеріал має полярні функціональні групи, ферментативний мікроорганізм або фермент, кожний з яких має комплементарні функціональні групи, що мають притягувальну взаємодію з функціональними групами неорганічного матеріалу, оцукрений матеріал, і розчинник, де

50 неорганічний матеріал був функціоналізований шляхом опромінення матеріалу іонізуючим випромінюванням з наступним загартуванням опроміненого матеріалу за допомогою гасильного засобу, придатного для продукування полярних функціональних груп, та де неорганічний матеріал вибраний з групи, в яку входять карбонат кальцію, арагонітова глина, орторомбічні глини, кальцитова глина, ромбоєдрична глина, каолін, бентонітова глина,

55 дикальцію фосфат, трикальцію фосфат, пірофосфат кальцію, нерозчинний метафосфат натрію, ортофосфат магнію, тризаміщений фосфат магнію, гідроксіапатити, синтетичні апатити, оксид алюмінію, гідратований оксид алюмінію, ксерогель діоксиду кремнію, алюмосилікатні комплекси металів, алюмосилікат натрію, силікат цирконію, діоксид кремнію, графіт, воластоніт, слюда, скло, скловолокно, кремнезем, тальк, вуглецеві волокна, провідна сажа, керамічні порошки і

60 керамічні волокна, тригідрат оксиду алюмінію, подрібнені будівельні відходи, і їх суміші.

2. Ферментаційна суміш за п. 1, де ферментативний мікроорганізм або фермент приєднані до неорганічного матеріалу за допомогою притягувальної взаємодії між комплементарними функціональними групами на зазначеному мікроорганізмі або ферменті і полярними функціональними групами неорганічного матеріалу.
- 5 3. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій неорганічний матеріал являє собою синтетичний матеріал.
4. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій полярні функціональні групи неорганічного матеріалу являють собою карбоксилатні групи.
- 10 5. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій полярні функціональні групи неорганічного матеріалу вибрані з групи, в яку входять альдегідні групи, нітрозогрупи, нітрильні групи, нітрогрупи, кетонні групи, аміногрупи, алкіламіногрупи, алкільні групи, хлоралкільні групи, хлорфторалкільні групи і енольні групи.
6. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій ферментативний мікроорганізм являє собою дріжджі.
7. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій ферментативний мікроорганізм являє собою бактерію.
- 15 8. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій фермент являє собою целюлазу.
9. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій частинки або волокна мають питому поверхню за BET, яка складає більше ніж $100 \text{ м}^2/\text{г}$.
10. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій частинки або волокна мають пористість, яка складає більше ніж 70 %.
- 20 11. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій частинки або волокна мають пористість, яка складає більше ніж 90 %.
12. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій частинки або волокна присутні у вигляді одношарового або багатошарового листа.
13. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій частинки або волокна присутні у вигляді волокнистого матеріалу, який накладений, складений або знаходиться у вигляді сітки або решітки.
- 25 14. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій волокна або частинки екструдують або спільно екструдують.
15. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій волокна або частинки мають нанометровий середній розмір частинок.
- 30 16. Ферментаційна суміш за п. 1, в якій оцукрений матеріал включає цукор, вибраний з групи, в яку входять сахароза, глюкоза, ксилоза або їх суміші.
17. Ферментаційна суміш за п. 1, яка додатково містить етанол.

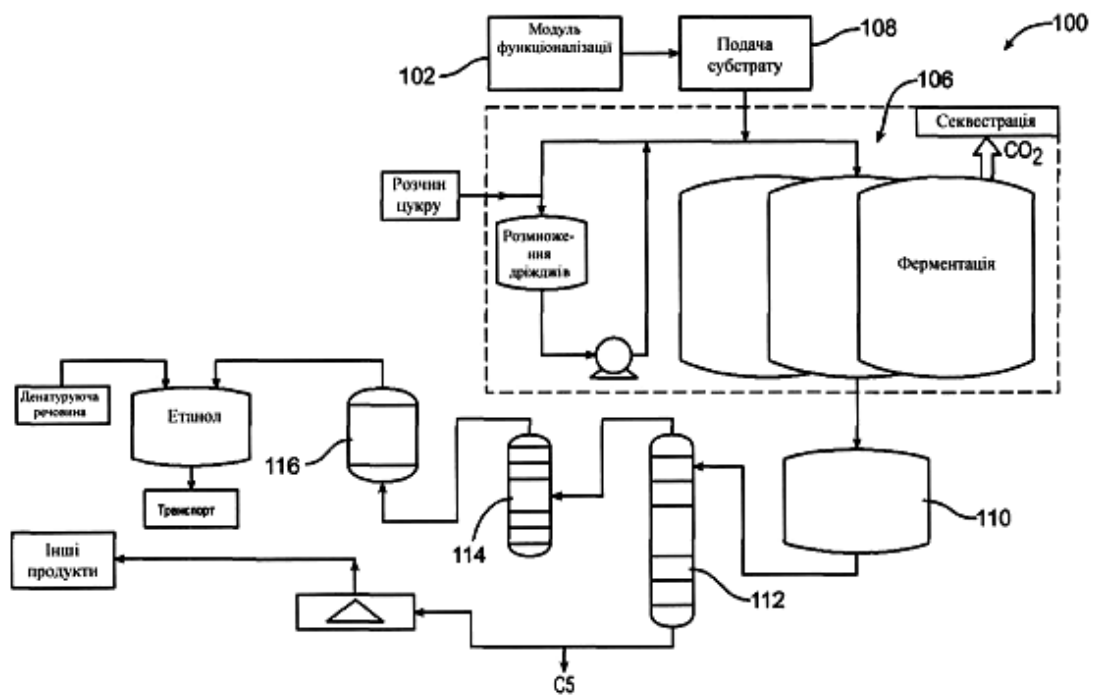


Fig. 1

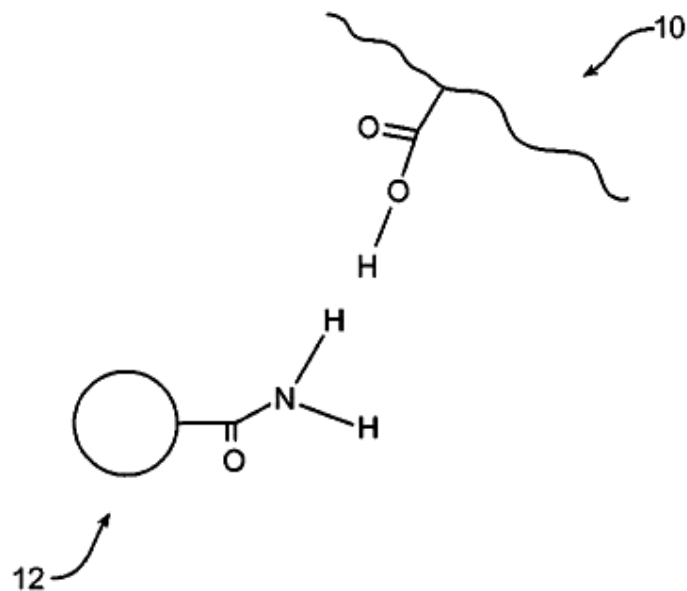


Fig. 2

Комп'ютерна верстка Т. Вахричева

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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