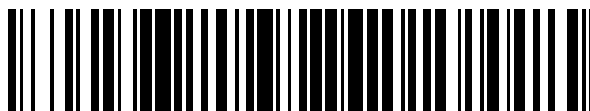


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 686 539**

51 Int. Cl.:

C12P 19/20 (2006.01)

C12P 19/14 (2006.01)

C12P 19/02 (2006.01)

A23L 29/30 (2006.01)

C13K 1/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.04.2013 PCT/CN2013/073545**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.10.2013 WO13143503**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.04.2013 E 13770343 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.06.2018 EP 2832861**

54 Título: **Procedimiento de preparación de azúcar por hidrólisis enzimática de residuos de batata**

30 Prioridad:

30.03.2012 CN 201210090800

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.10.2018

73 Titular/es:

**SHANDONG HONGHE SUNKEEN
BIOTECHNOLOGY CO. LTD. (100.0%)
Industrial Park Zoucheng
Shandong 273517, CN**

72 Inventor/es:

**WU, YUNSHAN;
YAN, GONGHONG;
YI, YONG;
KOU, ZHENG'EN y
WU, ZHEN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 686 539 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de preparación de azúcar por hidrólisis enzimática de residuos de batata

Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de la biología, en particular a un método de preparación de azúcar utilizando biomasa de residuos de batata como fuente de azúcar para la fermentación microbiana.

Antecedentes de la invención

La batata es uno de los cultivos alimentarios más importantes del país de la firma solicitante la República Popular China. Según las estadísticas, el cultivo y tratamiento de batata en dicho país ocupa el primer lugar en el mundo, y la producción total alcanza 85,2 millones de toneladas, en donde el 55% (alrededor de 46,86 millones de toneladas) se convierte en materia prima industrial. El residuo de batata es la totalidad del residuo producido en el proceso de tratamiento de la batata fresca en almidón y se desecha como residuo. Por lo tanto, se han desarrollado y utilizado grandes recursos renovables de biomasa.

La batata fresca contiene generalmente 30% de materia seca y 70% de humedad. En el tratamiento de batata se produce una gran cantidad de agua residual que contienen savia celular, que es el agua residual de almidón de batata. Contiene varias sustancias orgánicas nutritivas, tales como carbohidratos solubles, proteínas, vitaminas y elementos traza. El residuo del tratamiento del almidón de batata se analiza, y los principales ingredientes químicos son agua, almidón, proteínas en bruto, fibras, grasas, etc.

El desecho residual de la batata producido por el tratamiento final de la batata para producir almidón, fideos (masa filiforme delgada), tallarines instantáneos, tallarines de almidón, etc. representa aproximadamente 10% de las materias primas. El residuo de batata fresca inmediatamente desde la línea de producción contiene generalmente aproximadamente 90% de la savia celular. Mucho residuo de batata húmedo se amontona y no se desarrolla y utiliza de manera eficaz. Además, debido a la gran capacidad de retención de agua y capacidad de hinchamiento de las fibras de batata, los residuos frescos de batata que tienen azúcar, nitrógeno y diversos ingredientes nutritivos contienen 90% de agua y la demanda química de oxígeno (DQO) de sus aguas residuales es > 15000 mg/L. Por lo tanto, el residuo es susceptible de rancidificación causada por la fermentación de diversas bacterias, contamina severamente el medio ambiente, y conduce a un gran desperdicio de recursos renovables de biomasa.

En los últimos años, el punto clave para desarrollar residuos de batata incluye el uso de un método ácido, un método enzimático y un método de selección para eliminar la mayoría de almidón, proteínas y grasas en el residuo de batata, para extraer la fibra dietética y pectina, y prepararlas en productos. Sin embargo, la demanda del mercado de tales productos era débil y no se han producido a gran escala industrial.

El residuo de batata contiene, en base al peso seco, más de 50% de almidón y 22-26% de fibra. La fibra se compone principalmente de celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina, etc., y es el carbohidrato de miles de grupos de glucosa en estructura densa, que es difícil de ser degradada por la celulasa comercialmente disponible secretada por *Trichoderma koningii*. Se separa el almidón producido por pulverización con una máquina de raspado y sometiendo a una máquina de tamizado. El almidón restante del residuo de batata se licua por α -amilasa y se sacarifica por glucoamilasa, y su degradación no es completa. Por lo tanto, es una tarea importante realizar la utilización integral de los recursos de residuos de batata de biomasa, encontrar un método capaz de transformar eficazmente los residuos de batata en glucosa y desarrollar una nueva fuente de azúcar e industrializar el método. Dicha fuente no alimentaria de azúcar tiene importantes beneficios ambientales, beneficios sociales y beneficios económicos.

El documento WO 2009/052101 describe un método para producir productos finales, tales como alcoholes a partir de azúcares fermentables, que comprende las etapas de: (a) poner en contacto una suspensión que comprende grano molido que contiene almidón con una alfa-amilasa para producir un producto licuado; (b) poner en contacto el producto licuado con una glucoamilasa, una alfa-amilasa estable a los ácidos y una proteasa fúngica ácida, para producir azúcares fermentables; y (c) fermentar los azúcares fermentables en presencia de un organismo de fermentación para producir productos finales.

El documento WO 2004/087889 describe un proceso para producir un producto de fermentación, comprendiendo dicho método la pre-licuación de polisacáridos no amiláceos en presencia de beta-glucanasa, seguido por gelatinización, seguido por licuación en presencia de una beta-glucanasa termoestable, una xilanasa y opcionalmente una xilanasa (sic).

Shariffa et al. (*Food Hydrocolloids*, 2009, 23, pp. 434-440) han investigado el efecto del tratamiento térmico suave sobre la susceptibilidad del almidón granular a la hidrólisis enzimática. Los almidones de tapioca y de batata se sometieron a hidrólisis enzimática con una mezcla de α -amilasa fúngica y glucoamilasa a 35°C durante 24 horas. Du, Lianqi ("*Investigation on the optimum hydrolysis conditions of sweet potato pulp sugar*", *Modern Business Trade Industry*, vol.11, N°1, 1999, pp. 44-45) ha determinado las condiciones óptimas para la producción de glucosa cristalina mediante la prueba ortogonal de regresión cuadrática de tres factores. Las condiciones óptimas fueron las siguientes: temperatura 125°C, adición de ácido 4%-5%, tiempo 40 minutos, bajo estas condiciones de proceso, el

rendimiento de azúcar reductor fue 59,18%, y el valor ED la solución de azúcar fue 91-93.

Gong et al., ("*Investigation on the fed-batch hydrolysis of Cassava pulp by multi-enzyme and ethanol fermentation by Saccharomyces cerevisiae*", *Food and Fermentation Industries*, vol. 37, N° 4, 2011, pp.112-116) han estudiado la hidrólisis no térmica de la pulpa de yuca por múltiples enzimas y diferentes procedimientos de operación. La pulpa de yuca, que tiene un alto contenido de carbohidratos, es el residuo del tratamiento de almidón de yuca. Los resultados mostraron que la tasa de conversión de pulpa de yuca en glucosa con hidrólisis por lote alimentado aumentó desde 53,6% hasta 72,4% en comparación con el proceso por lotes. El hidrolizado se pudo utilizar para la fermentación de etanol sin ningún suplemento nutricional y la concentración de etanol alcanzó 24,9 g/L y la tasa de utilización de glucosa alcanzó 97% a las 24 horas, así como el rendimiento de etanol 42%, eficacia de fermentación 82% y productividad de etanol 1,04 g/ (L h).

Berlin et al., (*Biotechnology and Bioengineering*, vol.97, N° 2, 2007, pp. 287-296) han demostrado que la capacidad de una preparación de celulasa comercial de *Trichoderma reesei* para hidrolizar los componentes de celulosa y xilano del rastrojo de maíz pretratado se mejoró significativamente mediante la suplementación con tres tipos de preparaciones enzimáticas comerciales enriquecidas en actividad de xilanasa, pectinasa y beta-glucosidasa.

Sumario de la invención

El objetivo de la presente invención es proporcionar un método para preparar azúcar que comprende la reacción de degradación bioquímica enzimática de múltiples componentes, usando hidrólisis multienzimática combinada para destruir la pared celular que tiene varios componentes polisacáridos en el residuo de batata y para liberar monómeros. Este método mejora la tasa de conversión de glucosa y garantiza la pureza de los productos de azúcar.

La presente invención proporciona un método para preparar azúcar usando residuos de batata, que comprende las siguientes etapas.

Etapas 1: tomar residuos de batata, pulverizar o moler el residuo húmedo, añadir el agua residual del almidón de batata para formular una suspensión; ajustar la suspensión a pH 4,0-6,0, añadir celulasa y añadir β -glucanasa para hidrolizar durante 2-10 horas a 20-70°C.

Etapas 2: añadir xilanasa y pectinasa para hidrolizar durante 2-10 horas a 25-60°C y pH 3,5-6,0; añadir proteasa ácida para hidrolizar durante 1-8 horas a una temperatura de 30-50°C y pH 2,5-6,0; calentar a 110-120°C durante 30 minutos para inactivar las enzimas; ajustar a pH 5,5-8,0, añadir α -amilasa termoestable o α -amilasa mesófila para hidrolizar durante 1-2 horas; enfriar hasta 40-65°C, ajustar a pH 3,0-5,5, y añadir glucoamilasa para hidrolizar durante 10-20 horas.

Etapas 3: realizar la separación sólido-líquido para obtener material líquido, y concentrar el líquido para obtener el producto de azúcar líquido, cuyo ingrediente es básicamente glucosa.

Preferiblemente la pulverización en la etapa 1 se realiza sobre un tamiz de una abertura de malla de 150-830 μ m.

Preferiblemente la formulación de la suspensión es mezclar en una relación en masa entre material y líquido de 1:4-6.

Preferiblemente en la etapa 1 se añaden 70-200 U de celulasa por cada gramo de material.

Preferiblemente en la etapa 1 se añaden 4,5-13,5 U de β -glucanasa por cada gramo de material.

Preferiblemente en la etapa 2 se añaden 14,5-29 U de xilanasa por cada gramo de material y se añaden 9-30 U de pectinasa por cada gramo de material.

Preferiblemente en la etapa 2 se añaden 10-15 U de proteasa ácida por cada gramo de material.

Preferiblemente en la etapa 2 se añaden 12-20 U de α -amilasa termoestable por cada gramo de material.

Preferiblemente en la etapa 2 se añaden 100-300 U de glucoamilasa por cada gramo de material.

Preferiblemente se realiza una etapa adicional después de la etapa 2 y antes de la etapa 3: ajustar a pH 5,5-8,0, añadir α -amilasa termoestable para la segunda licuación durante 45 minutos; enfriar hasta 40-65°C, ajustar a pH 3,0-5,5, añadir glucoamilasa y celulasa para realizar la sacarificación. Preferiblemente se añaden 100 U de glucoamilasa por cada gramo de material, y se añaden 70 U de celulasa por cada gramo de material.

La preparación de azúcar a partir de residuo de batata por el método enzimático de acuerdo con la presente invención comprende usar celulasa doméstica, β -glucanasa, xilanasa y pectinasa, proteasa ácida, α -amilasa termoestable, glucoamilasa disponibles en el mercado y comparar diferentes materiales líquidos. La tasa de conversión de la materia seca del residuo de batata en glucosa es superior a 65%, y la tasa de conversión del almidón del residuo de batata en el azúcar reductor puede alcanzar 110%. La tasa de conversión aumenta mucho en comparación con el método tradicional de doble enzima. La tasa de conversión de la hidrólisis enzimática se refiere

a la fracción másica entre la cantidad total (calculada como glucosa) de azúcares reductores liberados por hidrólisis enzimática de residuos de batata y la masa de materia seca en el residuo de ensayo de batata, que indica los grados de hidrólisis de diversos polisacáridos (almidón y pectina, hemicelulosa y celulosa, etc.) en el residuo de batata.

Los experimentos indican que es técnicamente difícil hidrolizar diversos componentes de polisacáridos de residuos de batata usando preparaciones de enzimas domésticas, particularmente es baja la tasa de conversión para preparar azúcar por degradación de celulosa y lignina. El mecanismo para la enzimólisis combinada de acuerdo con la presente invención es que celulasa, β -glucanasa, pectinasa y xilanasa actúan sinérgicamente para destruir la pared celular, desconectar la lignina y la pectina unidas (la matriz que protege la celulosa) y la glicoproteína en estado de unión. Para aumentar la tasa de conversión se promueven enzimáticamente las reacciones bioquímicas de degradación de los diversos componentes de macromoléculas de polisacáridos del residuo de batata en monosacáridos.

El residuo de batata contiene 50% o más de almidón (basado en materia seca), y los polisacáridos de hemicelulosa y pectina en una estructura suelta pueden ser transformados en azúcar total o parcialmente por enzimas hidrolíticas. Las muestras preparadas por el método de acuerdo con la presente invención se analizan por HPAEC (Dionex Corporation): seleccionando una columna analítica PA10 y usando NaOH 18 mM como tampón, caudal: 1 mL/min, recogiendo durante 40 minutos para cada muestra. Las muestras se identifican básicamente como glucosa, que son materiales de azúcar de alta calidad para la fermentación microbiana, y se pueden usar en la fermentación industrial.

Los componentes líquidos del azúcar preparados usando el presente proceso son identificados por la Academia China de Ciencias (ACC) como básicamente glucosa, en lugar de otros monosacáridos reductores, lo que indica que el proceso de preparación puede conseguir básicamente una enzimólisis completa.

El método de acuerdo con la presente invención es suave en las condiciones del tratamiento, sencillo en el tratamiento y el equipo, fuerte en especificidad y mejora la tasa de conversión del azúcar reductor total, y los productos son de calidad pura. Tal método puede resolver el problema de la contaminación ambiental severa, y tiene buenas perspectivas para aplicaciones industriales.

Realizaciones detalladas

Con el fin de comprender mejor la solución técnica de la presente invención, la presente invención se ilustra adicionalmente a continuación en detalle junto con ejemplos específicos.

Ejemplo 1:

Se obtuvieron residuos de batata (humedad 12,7%, almidón 56,19%, proteína en bruto 3,69%) de cierto lugar en la provincia de Shandong, se pulverizaron sobre un tamiz de una abertura de malla de 250 μ m, se preparó una suspensión según una relación material-líquido de 1:5 en un recipiente de 30 L añadiendo agua residual de almidón de batata. La suspensión se ajustó a pH 5,5, se calentó hasta 55°C, y se hidrolizó durante 4 horas después de añadir celulasa (se añadieron 100 U de enzima por cada gramo de material) y añadir β -glucanasa (se añadieron 10 U de enzima por cada gramo de material). A continuación, la suspensión se enfrió hasta 45°C, se ajustó a pH 4,5 y se hidrolizó durante 4 horas después de añadir xilanasa y pectinasa (se añadieron 29 U de xilanasa y 20 U de pectinasa por cada gramo de material).

Se añadió proteasa ácida (se añadieron 10 U de enzima por cada gramo de material) y se hidrolizó durante 2 horas a una temperatura de 50°C y pH 4,0. La temperatura se elevó hasta 110°C para inactivar la enzima. El pH se ajustó a 6,5 y se añadió α -amilasa termoestable (se añadieron 12 U de enzima por cada gramo de material) para licuar durante 45 minutos. La temperatura se enfrió hasta 60°C, el pH se ajustó a 4,5 y se hidrolizó durante 10 horas con glucoamilasa (se añadieron 200 U de enzima por cada gramo de material). El lote de recipientes para la enzimólisis se ajustó directamente a pH 6,5, y se añadió α -amilasa termoestable (se añadieron 12 U de enzima por cada gramo de material), y la licuación se realizó por segunda vez durante 60 minutos. La temperatura se enfrió hasta 60°C, el pH se ajustó a 4,5, y para realizar la sacarificación se añadieron glucoamilasa (se añadieron 100 U de enzima por cada gramo de material) y celulasa (se añadieron 100 U de enzima por cada gramo de material).

Después de completar la sacarificación, el material líquido se sometió a separación sólido-líquido, y el líquido se concentró para obtener el producto líquido de azúcar. La tasa de conversión de la materia seca del residuo de batata en glucosa fue 65,6%. La tasa de conversión del "almidón" del residuo de batata en monosacárido fue 108%.

El contenido de almidón en el residuo de batata se calculó de acuerdo con la determinación del contenido de almidón en alimentos y aceite de "National Standards GB/T 5514-2008". El método es el siguiente: pesar cuantitativamente el residuo de batata que se va a determinar el contenido de "almidón", centrifugar el puré sacarizado, y después hidrolizar, lavar y centrifugar, medir y registrar la cantidad total de azúcares reductores en el líquido sobrenadante y calcular la tasa de conversión de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Tasa de conversión de masa de residuo de batata (en peso seco) en azúcar: \%} = [\text{cantidad total de azúcar reductor en el líquido sobrenadante (en peso seco)} \div \text{masa de residuo de batata (en peso seco)}] \times 100$$

Ejemplo 2:

- Se obtuvieron residuos de batata (humedad 12,7%, almidón 56,19%, proteína en bruto 3,69%) de cierto lugar en la provincia de Shandong, se pulverizaron sobre un tamiz de una abertura de malla de 380 μm , se preparó una suspensión según una relación material-líquido de 1:4,5 en un recipiente de 30 L añadiendo agua residual de almidón de batata. La suspensión se ajustó a pH 5,0, se calentó hasta 50°C, y se hidrolizó durante 4 horas después de añadir celulasa (se añadieron 70 U de enzima por cada gramo de material) y añadir β -glucanasa (se añadieron 10 U de enzima por cada gramo de material). A continuación, la suspensión se enfrió hasta 42°C, se ajustó a pH 4,0 y se hidrolizó durante 4 horas después de añadir xilanasa y pectinasa (se añadieron 14,5 U de xilanasa y 9 U de pectinasa por cada gramo de material).
- Se añadió proteasa ácida (se añadieron 12 U de enzima por cada gramo de material) y se hidrolizó durante 2 horas a una temperatura de 50°C y pH 4,0. La temperatura se elevó hasta 115°C para inactivar la enzima. El pH se ajustó a 6,5 y se añadió α -amilasa termoestable (se añadieron 15 U de enzima por cada gramo de material) para licuación durante 45 minutos. La temperatura se enfrió hasta 60°C, el pH se ajustó a 4,5 y se hidrolizó durante 15 horas con glucoamilasa (se añadieron 100 U de enzima por cada gramo de material). El lote de recipientes para la enzimólisis se ajustó directamente a pH 6,5, y se añadió α -amilasa termoestable (se añadieron 12 U de enzima por cada gramo de material), y la licuación se realizó por segunda vez durante 45 minutos. La temperatura se enfrió hasta 60°C, el pH se ajustó a 4,5, y para realizar la sacarificación se añadieron glucoamilasa (se añadieron 100 U de enzima por cada gramo de material) y celulasa (se añadieron 100 U de enzima por cada gramo de material).
- Después de completar la sacarificación, el material líquido se sometió a separación sólido-líquido, y el líquido se concentró para obtener el producto líquido de azúcar. La tasa de conversión de la materia seca del residuo de batata en glucosa fue 65,2%. La tasa de conversión del "almidón" del residuo de batata en monosacáridos fue 106%.

Ejemplo 3:

- El residuo de batata (humedad 12,7%, contenido de almidón > 62%, proteína en bruto 3,69%) se obtuvo de cierto lugar en la provincia de Shandong, se pulverizó sobre un tamiz de una abertura de malla de 230 μm y se preparó una suspensión de acuerdo con una relación material-líquido de 1:4 en un recipiente de 30 L añadiendo agua residual de almidón de batata. La suspensión se ajustó a pH 6,0, se calentó hasta 60°C, y se hidrolizó durante 4 horas después de añadir celulasa (se añadieron 200 U de enzima por cada gramo de material) y añadir β -glucanasa (se añadieron 13,5 U de enzima por cada gramo de material). A continuación, la suspensión se enfrió hasta 50°C, se ajustó a pH 4,6 y se hidrolizó durante 4 horas después de añadir xilanasa y pectinasa (se añadieron 20 U de xilanasa y 30 U de pectinasa por cada gramo de material).
- Se añadió proteasa ácida (se añadieron 15 U de enzima por cada gramo de material) y se hidrolizó durante 2 horas a una temperatura de 50°C y pH 4,0. La temperatura se elevó hasta 120°C para inactivar la enzima. El pH se ajustó a 6,5 y se añadió α -amilasa termoestable (se añadieron 20 U de enzima por cada gramo de material) para licuación durante 50 minutos. La temperatura se enfrió hasta 60°C, el pH se ajustó a 4,5 y se añadió hidrolizó durante 20 horas con glucoamilasa (se añadieron 300 U de enzima por cada gramo de material). El lote de recipientes para la enzimólisis se ajustó directamente a pH 6,5, y se añadió α -amilasa termoestable (se añadieron 12 U de enzima por cada gramo de material), y la licuación se realizó por segunda vez durante 45 minutos. La temperatura se enfrió hasta 60°C, el pH se ajustó a 4,5, y para realizar la sacarificación se añadieron glucoamilasa (se añadieron 100 U de enzima por cada gramo de material) y se celulasa (se añadieron 100 U de enzima por cada gramo de material).
- Después de completar la sacarificación, el material líquido se sometió a separación sólido-líquido, y el líquido se concentró para obtener el producto líquido de azúcar. La tasa de conversión de la materia seca del residuo de batata en glucosa fue 68,4%. La tasa de conversión del "almidón" del residuo de batata en monosacáridos fue 110%.

Ejemplo 4: Se tomó para análisis el producto líquido de azúcar de cualquiera de los Ejemplos 1-3**Tratamiento de la muestra:**

- 12000 rpm, 10 minutos. Se tomó líquido sobrenadante y se filtró a través de una membrana Pal de 0,45 μm .

Análisis de la muestra: Se seleccionó el análisis HPAEC de Dionex Corporation, columna analítica PA10.

Tampón: NaOH 18 mM

Caudal: 1 mL/min

El tiempo de recogida para cada muestra fue 40 minutos.

- Resultados experimentales:

Los monosacáridos que podían estar contenidos en las muestras seleccionadas se usaron como patrones y se analizaron en PA10. Los tiempos de retención para los monosacáridos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Tiempo de retención para los monosacáridos

	Ramnosa	Arabinosa	Galactosa	Glucosa	Xilosa	Manosa
Tiempo de retención	8,417	9,417	11,25	13	13,583	14,083

Se comprobó que la xilosa y la manosa no podían ser separadas bajo esta condición, por lo que el tiempo de retención de 13,5 minutos es para la mezcla de xilosa y manosa.

5 Análisis de componentes líquidos de azúcar

Muestreo: Se tomaron muestras del mismo lote de recipientes después de hidrólisis añadiendo las diferentes enzimas en orden cronológico.

10 Código N° 1: 0 - 10 horas, se añadieron celulasa y β -glucanasa (4 horas); luego se añadieron xilanas y pectinas (4 horas); se añadió adicionalmente proteasa ácida (2 horas), y luego se tomaron muestras y se centrifugaron para obtener el líquido sobrenadante centrifugado.

Código N° 2: 10 h -11 h (después del proceso N° 1) y luego se añadió el líquido sobrenadante centrifugado hidrolizado por α -amilasa.

Código N° 3: El concentrado del líquido sobrenadante centrifugado de material líquido licuado N° 2.

15 Código N° 4: 11 h - 26 h (después del proceso N° 2) y luego el líquido sobrenadante centrifugado del material líquido sacarificado hidrolizado por glucoamilasa (es decir, el producto de azúcar líquido obtenido por cualquiera de los Ejemplos 1-3)

Código N° 5: El concentrado del líquido sobrenadante centrifugado N° 4 de líquido sacarizado

20 Las muestras de los N° 1, 2, 3 y 4 se diluyeron todas 100 veces y la muestra N° 5 se diluyó 200 veces, y todas se analizaron en el Centro de Bioingeniería para el azúcar, Instituto de Microbiología, de la Academia China de Ciencias: se analizaron por HPAEC de Dionex Corporation, y se seleccionó la columna analítica PA10. Se usaron para los análisis patrones de ramnosa, arabinosa, galactosa, glucosa, xilosa y manosa.

Hubo dos picos para la muestra N° 1: 8,667 y 11,917, y el contenido de glucosa fue 10,5 mg/mL. El contenido de arabinosa fue muy poco.

El tiempo del pico principal para el N°2 fue 11,750, y el contenido fue 172 mg/mL.

25 Muestra N° 3: 11,417, y el contenido de azúcar fue 548 mg/mL.

Muestra N° 4: 11,583. El contenido de azúcar fue 184 mg/mL y no se detectaron disacáridos ni polisacáridos.

Muestra N° 5: 11,5. El contenido de azúcar fue 511 mg/mL, y no se detectaron disacáridos ni polisacáridos.

30 Análisis preliminar de los resultados: La mayoría del componente de las muestras era glucosa, es decir, a excepción de la muestra N° 1 antes del "proceso de licuación" que contiene cantidades trazas de ramnosa y glucosa, los componentes de las cuatro muestras en los otros procesos fueron todos glucosa, es decir, los componentes del líquido sobrenadante centrifugado del material líquido sacarificado, eran todos glucosa. En resumen, todos los componentes de las muestras de producto de azúcar líquido obtenido de acuerdo con cualquiera de los Ejemplos 1-3 eran todos básicamente glucosa.

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar azúcar usando residuos de batata, caracterizado por que el método comprende las siguientes etapas:
 - 5 Etapa 1: tomar residuos de batata, pulverizar o moler el residuo húmedo, añadir el agua residual del almidón de batata para formular una suspensión; ajustar la suspensión a pH 4,0-6,0, añadir celulasa y añadir β -glucanasa para hidrolizar durante 2-10 horas a 20-70°C;
 - 10 Etapa 2: añadir xilanasas y pectinasas para hidrolizar durante 2-10 horas a 25-60°C y pH 3,5-6,0; añadir proteasa ácida para hidrolizar durante 1-8 horas a una temperatura de 30-50°C y pH 2,5-6,0; calentar a 110-120°C durante 30 minutos para inactivar las enzimas; ajustar a pH 5,5-8,0, añadir α -amilasa termoestable o α -amilasa mesófila para hidrolizar durante 1-2 horas; enfriar hasta 40-65°C, ajustar a pH 3,0-5,5 y añadir glucoamilasa para hidrolizar durante 10-20 horas; y
 - Etapa 3: realizar una separación sólido-líquido en el material líquido, concentrando el líquido para obtener glucosa.
2. El método según la reivindicación 1, caracterizado por que la pulverización en la etapa 1 se realiza sobre un tamiz de una abertura de malla de 150-830 μ m.
- 15 3. El método según la reivindicación 1, caracterizado por que la formulación de la suspensión en la etapa 1 se realiza mezclando a una relación en masa entre material y líquido de 1:4-6.
4. El método según la reivindicación 1, caracterizado por que, en la etapa 1, se añaden 70-200 U de celulasa por cada gramo de material.
- 20 5. El método según la reivindicación 1, caracterizado por que, en la etapa 1, se añaden 4,5-13,5 U de β -glucanasa por cada gramo de material.
6. El método según la reivindicación 1, caracterizado por que, en la etapa 2, se añaden 14,5-29 U de xilanasas por cada gramo de material, y se añaden 9-30 U de pectinasas por cada gramo de material.
7. El método según la reivindicación 1, caracterizado por que, en la etapa 2, se añaden 10-15 U de proteasa ácida por cada gramo de material.
- 25 8. El método según la reivindicación 1, caracterizado por que, en la etapa 2, se añaden 12-20 U de α -amilasa termoestable por cada gramo de material.
9. El método según la reivindicación 1, caracterizado por que, en la etapa 2, se añaden 100-300 U de glucoamilasa por cada gramo de material.
- 30 10. El método según la reivindicación 1, caracterizado por que, después de la etapa 2, se realiza una etapa adicional que comprende: ajustar a pH 5,5-8,0, añadir α -amilasa termoestable para la segunda licuación durante 45 minutos; enfriar hasta 40-65°C, ajustar a pH 3,0-5,5, y añadir glucoamilasa y celulasa para realizar la sacarificación.
11. El método según la reivindicación 10, caracterizado por que se añaden 100-300 U de glucoamilasa por cada gramo de material, y se añaden 70-200 U de celulasa por cada gramo de material.