

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 770 305**

51 Int. Cl.:

C08B 37/00 (2006.01)

C12P 19/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.03.2016 PCT/JP2016/059939**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.11.2016 WO16185801**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2016 E 16796195 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2019 EP 3299394**

54 Título: **Método para producir xilopolisacáridos modificados**

30 Prioridad:

18.05.2015 JP 2015100629

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

01.07.2020

73 Titular/es:

**B FOOD SCIENCE CO., LTD. (100.0%)
24-12, Kitahama-machi, Chita-shi
Aichi 478-0046, JP**

72 Inventor/es:

**MAKISHIMA SATOSHI;
IKEDA HIROFUMI;
YAMAKAWA YOUSUKE;
AMANO YOSHIHIKO;
SATO NOBUAKI y
ARAI TSUTOMU**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 770 305 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

Método para producir xilopolisacáridos modificados

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método para producir un xilopolisacárido modificado.

Antecedentes de la invención

10

De acuerdo con el patrón japonés de ingesta dietética de fibras dietéticas descrito en la edición del 2015 del Ministerio de Salud, Trabajo y Riqueza, se dice que preferiblemente los adultos masculinos y femeninos ingieran fibras dietéticas de 19 g a 20 g o más, y 17 g a 18 g o más al día, respectivamente. Sin embargo, según el Informe de la Encuesta de Salud Pública y Nutrición de 2012, el hecho es que los adultos masculinos y femeninos solo

15

ingieren fibras dietéticas de 13,0 g a 17,1 g, y aproximadamente 13,2 g a 17,1 g, respectivamente. El mercado de polisacáridos como la dextrina, la polidextrosa y el glucomanano no digeribles, que son una clase de fibras dietéticas, tiende a expandirse. Esta tendencia muestra un gran interés de las personas en las fibras dietéticas y, por lo tanto, el mercado ha excedido en tamaño al mercado de oligosacáridos.

20

Por otro lado, hay movimientos en el mercado de los oligosacáridos no solo para perseguir un objetivo para mejorar la función intestinal simplemente como factor de crecimiento de las bifidobacterias, sino también para exigir nuevas funciones para mejorar los síntomas alérgicos y mejorar la función inmune al oligosacárido.

25

Originalmente, en muchos casos las fibras dietéticas se refieren a un término general de hidrolizados parciales de celulosa, hemicelulosas y lignina que forman las paredes celulares de las plantas, además de esas mismas sustancias. Sin embargo, las paredes celulares de las plantas son difíciles de degradar, lo que genera dificultades para extraer industrialmente fibras dietéticas de las paredes celulares de las plantas a bajo costo. Esta extracción tiene un problema técnico al igual que la dificultad en la producción industrial de bioetanol a partir de un material

30

celulósico. Por lo tanto, las fibras dietéticas solubles en agua que se venden en el mercado son en muchos casos polisacáridos no digeribles producidos a partir de almidón como material de partida. El xilano, que es un tipo de hemicelulosas que forman las paredes celulares de las plantas, es un polímero que tiene β -D-xilopiranosas como unidad básica. Además, ya se ha puesto en práctica una tecnología para producir xilosa y un xilooligosacárido a partir de xilano (véase el Documento de Patente 1). Sin embargo, a fin de la tendencia nutriente del mundo moderno, se exige una tecnología para separar un polisacárido macromolecular que tenga una función de fibras dietéticas, o una tecnología para recolectar un oligosacárido funcional que tenga cadenas laterales modificadas derivadas de las paredes celulares de las plantas.

35

40

Se conoce un método para producir un sacárido a partir de biomasa que contiene xilano desde hace mucho tiempo, que se realiza hidrolizando xilano mediante el uso de un ácido o un álcali. Específicamente, la xilosa (es decir, el monosacárido), que es una materia prima del xilitol, se obtiene industrialmente hidrolizando el xilano con ácido sulfúrico. Además, se sabe que un método para producir un oligosacárido a partir de xilano se realiza hidrolizando enzimáticamente xilano. Los xilooligosacáridos disponibles en el mercado se producen en muchos casos mediante dicho método enzimático. El método enzimático se realiza después de un pretratamiento en el que se añade de antemano una solución alcalina o se hierve una materia prima a fin de acortar el tiempo de reacción.

45

Las tecnologías respectivas mencionadas anteriormente para producir un sacárido tienen una serie de desventajas. Es decir, aunque la hidrólisis se realiza mediante un catalizador ácido-base, la carga ambiental generada por un ácido y un álcali es relativamente grande y un grupo útil derivado de las paredes celulares de las plantas que modifica un xilopolisacárido es eliminado por el ácido y el álcali. Por lo tanto, recientemente se ha llamado la atención sobre la llamada tecnología de reacción hidrotérmica, en la que se utiliza agua a alta temperatura y alta presión para la biomasa (véase Documento de Patente 2 y Documento no de Patente 1).

50

55

Cuando la temperatura y la presión del agua exceden el punto crítico de 374 °C y 23,4 MPa, el agua se convierte en un fluido homogéneo diferente de un gas o un líquido. Dicho fluido se denomina agua supercrítica y muestra una reactividad lo suficientemente alta como para descomponer sustancias casi orgánicas. Téngase en cuenta que un fluido mantenido a una temperatura y presión más bajas que el punto crítico se denomina agua subcrítica, agua a alta temperatura y alta presión, o agua caliente a presión o similares.

60

La reacción de hidrólisis de una cadena de sacárido generada cuando se usa un ácido, un álcali y una enzima tiene lugar por un catalizador ácido-base. En el presente documento, el agua a alta temperatura y alta presión en la tecnología de reacción hidrotérmica tiene la misma función. El agua proporciona una variedad de campos de reacción cuando se modifica su temperatura y presión. Este perfil permite evaluar el agua a alta temperatura y alta presión como un disolvente con una baja carga ambiental, de modo que los polisacáridos que forman las paredes celulares de las plantas se hidrolizan y se hacen solubles en el agua a alta temperatura y alta presión.

65

Un reactor hidrotérmico que genera experimentalmente agua a alta temperatura y alta presión está configurado para incluir un recipiente a presión de tipo discontinuo y un controlador de temperatura hecho de un metal anticorrosivo con una capacidad de varias a varias decenas de ml. Además, también se investiga un reactor hidrotérmico de tipo flujo continuo que tiene una tubería de reacción de tipo tubular. Esos reactores hidrotérmicos se verifican en una planta de banco a escala.

En un reactor hidrotérmico de flujo continuo, una tubería de reacción que tiene un cierto grado de capacidad calorífica y una longitud de tubería se somete a control de temperatura, y un material de biomasa pasa a través de ella a una velocidad constante. Además, estos reactores hidrotérmicos tienen la ventaja de permitir que se alcance una temperatura y un tiempo de reacción muy bruscos mediante el ajuste de las condiciones adecuadas para las etapas de aumento de la temperatura y enfriamiento (véase el Documento de Patente 3 y el Documento no de Patente 2).

15 Documentos de la técnica anterior

Documentos de patente

20 Documento de patente 1: Publicación de solicitud de patente japonesa no examinada por el público n.º 2003-48901.

Documento de patente 2: Publicación de solicitud de patente japonesa no examinada por el público n.º 2010-57509.

Documento no de patente

25 Documento no de patente 1: S. Makishima, M. Mizuno, N. Sato, K. Shinji, M. Suzuki, K. Nozaki, F. Takahashi, T. Kanda e Y. Amano: Desarrollo de un reactor hidrotérmico de flujo continuo para la recuperación de la fracción de hemicelulosa a partir de mazorcas de maíz, *Bioresource Technology*, 100, 2842 (2009).

30 Sumario de la invención

Problemas a resolver por la invención

35 Se puede llevar a cabo un método para producir xilosa (es decir, monosacárido) descomponiendo biomasa que contiene xilano en moléculas pequeñas usando un método de hidrólisis ácida, por ejemplo, usando un ácido para realizar un tratamiento de hidrólisis. Sin embargo, el método de hidrólisis ácida tiene una alta reactividad, por lo que la hidrólisis del xilano se produce con demasiada rapidez.

40 Esta reactividad hace que sea difícil terminar la reacción de hidrólisis dentro de una fase de xilopolisacárido que tiene un peso molecular grande (es decir, el xilopolisacárido incluye un xilooligosacárido que tiene aproximadamente 2-12 grados de polimerización de monosacárido (es decir, grado de polimerización), lo mismo se aplicará en adelante).

45 Además, a fin de la alta tasa de hidrólisis y la selectividad, es probable que el xilano en la biomasa se hidrolice mediante la aplicación de una enzima (por ejemplo, xilanasa) capaz de hidrolizar el xilano a la biomasa. Sin embargo, si la biomasa se trata con un álcali como pretratamiento de la reacción enzimática, este tratamiento hidroliza sustituyentes tales como un grupo acetilo y un grupo arabinofuranosilo o similares derivados de las paredes celulares de las plantas y presentes en las cadenas laterales del xilopolisacárido en xilano.

50 Por consiguiente, en un método para usar un álcali combinado con una enzima, se produce predominantemente un xilo-homo-oligosacárido de bajo peso molecular y no modificado que no tiene cadenas laterales (es decir, el grado de polimerización es de 2-3). Esto dificulta la recolección de un xilopolisacárido modificado.

55 En el presente documento, a fin de proteger las cadenas laterales modificadas de un xilopolisacárido contra un tratamiento alcalino, existe un método para hacer que la xilanasa actúe directamente sobre la biomasa sin un tratamiento alcalino. Sin embargo, en este caso, la velocidad de hidrólisis se vuelve extremadamente baja, de modo que las cadenas laterales modificadas inhiben la reacción, dando como resultado una disminución en el rendimiento. Por lo tanto, a fin de aumentar la velocidad de hidrólisis, se considera que usa una gran cantidad de xilanasa.

60 Sin embargo, una formulación de xilanasa disponible en el mercado se contamina con esterasa durante el proceso de producción. Por lo tanto, el uso de una gran cantidad de xilanasa permite la contaminación de una gran cantidad de esterasa en el sistema de reacción. Esta esterasa contaminada elimina los sustituyentes presentes en las cadenas laterales de xilano, de modo que predominantemente se forma un xilo-homo-oligosacárido de bajo peso molecular y no modificado de manera similar al método para usar un álcali en combinación con una enzima. Esto dificulta la recolección de un xilopolisacárido modificado.

5 Cuando se tienen en cuenta las desventajas anteriores, es difícil producir selectiva e industrialmente un xilopolisacárido modificado con un gran peso molecular mediante un método enzimático. Además, la producción de un xilopolisacárido modificado de bajo peso molecular requiere una gran cantidad de xilanasa purificada de la que se elimina la esterasa, lo que da como resultado un proceso industrialmente poco práctico. Por lo tanto, se demanda un método para producir industrialmente en masa un xilopolisacárido modificado.

10 En el presente documento, existe la posibilidad de producir preferentemente un xilopolisacárido modificado si se puede controlar preferiblemente una reacción hidrotérmica de biomasa que contiene xilano. En la reacción hidrotérmica, una molécula de agua reacciona con xilano como agente nucleófilo. Como resultado, preferentemente se hidroliza un enlace β -1,4 entre xilosas, que son polisacáridos que forman principalmente xilano, y, por lo tanto, se obtiene un xilopolisacárido modificado protegiendo los sustituyentes. Por lo tanto, existe la posibilidad de producir industrialmente en masa un xilopolisacárido modificado.

15 Hasta ahora, en la investigación que utiliza un reactor hidrotérmico de tipo discontinuo, se ha utilizado un reactor con una capacidad de varias a varias decenas de ml. En un ensayo a escala para la producción industrial con una capacidad de lote de más de 1 l, se pueden consumir cantidades de tiempo de más de varias decenas de minutos a 1 hora hasta que la temperatura de reacción alcance una temperatura preestablecida para mantenerse estable, si el material de muestra se somete a las condiciones de reacción, por ejemplo, a 200 °C y durante 10 min. A pesar de que se mejora la capacidad calorífica del calentador, el control de la temperatura y la capacidad de agitación dentro del reactor, es difícil controlar de manera uniforme la energía de la reacción hidrotérmica dentro del lote en solo 10 minutos contra los historiales térmicos predominantes generados en las etapas de calentamiento y enfriamiento. Los historiales térmicos excesivos no solo provocan la eliminación de los sustituyentes sino que también aumentan las cantidades del monosacárido xilosa generadas de esta manera. Esto da como resultado la producción de furfural que es un producto de degradación excesiva de la xilosa. Dado que el furfural inhibe fuertemente la reacción enzimática y las etapas de purificación realizadas en una fase tardía, se debe inhibir la reacción secundaria que genera furfural.

20 Por lo tanto, se ha desarrollado un reactor hidrotérmico de flujo continuo provisto de una tubería de reacción de tipo tubular. El reactor está configurado principalmente para hacer que una suspensión de biomasa fluya hacia la tubería de reacción termocontrolada a una velocidad constante. Por lo tanto, si los componentes de las unidades de calentamiento y enfriamiento están bien diseñados, esto puede tener el mérito para que se pueda alcanzar una temperatura y un tiempo de reacción muy bruscos (por ejemplo, la publicación de solicitud japonesa no examinada por el público n.º 2008-253861 y S. Makishima y N. Sato: Tecnología de producción de varios sacáridos usando reacción hidrotérmica, Applied Saccharide Science, 2 (3), pp. 174-179 (2012)).

25 Sin embargo, dicho reactor de tipo tubular también genera un problema de aumento de escala similar al reactor de tipo discontinuo anterior. Por ejemplo, a medida que aumenta el área de la sección transversal de un tubo con un diámetro de una pulgada para mejorar el rendimiento del tratamiento del reactor de tipo tubular, los movimientos de un fluido dentro del reactor cambian gradualmente.

30 Específicamente, a medida que aumenta el área de la sección transversal del tubo, disminuye la eficiencia de la conductividad térmica a una materia prima. Además, dichos fenómenos pueden ocurrir cuando se producen turbulencias dentro del reactor haciendo que una materia prima pase más rápido de lo esperado (es decir, un paso anormal), o cuando se produce acumulación por sedimentación que da lugar a un retraso del flujo.

35 Como se ha mencionado anteriormente, un simple aumento en el área de la sección transversal del reactor de tipo tubular deteriora unas condiciones denominadas de "flujo pistón" en la que una materia prima que fluye de este modo en el reactor se descarga sucesivamente al recibir energía de reacción uniforme. Además, este fenómeno deteriorado disminuye notablemente el rendimiento del xilopolisacárido modificado, lo que lleva a la generación de subproductos.

40 Para resolver los inconvenientes anteriores, se puede considerar que están conectados en paralelo una pluralidad de reactores de tipo tubular y está conectada una bomba grande para hacer que una materia prima fluya respectivamente a través de los reactores de tipo tubular calentados. Sin embargo, a pesar de que aumenta la cantidad total de las distribuciones, el caudal por reactor de tipo tubular fluctúa debido a una diferencia en la pérdida de presión de cada reactor de tipo tubular.

45 En consecuencia, esto da como resultado una desviación de los historiales de reacción. Por lo tanto, a fin de evitar la deflexión, el reactor de tipo tubular y la bomba grande deben diseñarse independientemente. Sin embargo, este diseño requiere la disposición en paralelo de varios cientos de reactores de tipo tubular con una baja capacidad, lo que requiere grandes gastos en dispositivos.

50 Investigar un fluido a alta temperatura y alta presión es nada menos que aplicar las propiedades fisicoquímicas de un medio como el agua y, por lo tanto, se ha investigado en varios campos de la ingeniería química, como la ingeniería de procesos, la ingeniería de materiales y la ingeniería nuclear. En muchos casos, un reactor que genera una reacción hidrotérmica está diseñado casi directamente para la descomposición hidrolítica completa de

compuestos orgánicos o un dispositivo de pretratamiento de biomasa fermentada o de sacarificación enzimática de la biomasa (por ejemplo, Publicación de patente japonesa n.º 4691214).

5 La presente invención se realiza a fin de resolver los inconvenientes anteriores. Por lo tanto, un objeto de la presente invención es proporcionar un método capaz de producir industrialmente en masa un xilopolisacárido modificado a partir de biomasa.

Medios para resolver los problemas

10 Los presentes inventores han investigado seriamente a fin de resolver los inconvenientes anteriores, lo que da como resultado los siguientes hallazgos. En concreto, la presente invención se refiere a un método para producir un xilopolisacárido modificado que conserva sustituyentes en una cadena lateral de xilano. Una materia prima del método es la biomasa que contiene xilano en las paredes celulares de las plantas para producir el xilopolisacárido modificado. En el presente documento, xilano tiene al menos un tipo de sustituyentes seleccionados de un grupo
15 acetilo, un grupo feruloil arabinofuranosilo y un grupo cumaroil arabinofuranosilo, en una de sus cadenas laterales.

Específicamente, la biomasa se somete a un tratamiento hidrotérmico continuo en condiciones controladas: a una temperatura de reacción de 160 °C o más; a una presión de reacción de presión de vapor de agua saturada o más a dicha temperatura de reacción; y con un parámetro de severidad R_0 que varía de 3000 a 7000 calculado por la
20 siguiente ecuación (1). El tratamiento hidrotérmico continuo se lleva a cabo mediante un reactor cilíndrico de flujo pistón provisto de un mecanismo de control de paso dentro del reactor. El mecanismo de control de paso genera un flujo pistón sobre la suspensión que incluye la biomasa a un contenido sólido en la proporción del 10 % en masa al 30 % en masa.

$$R_0 = \int_0^t \exp \left(\frac{T(t) - T_r}{\omega} \right) dt$$

25 -----Ecuación (1)

donde $T(t)$ representa una variación con el tiempo en la temperatura (°C); T_r representa una temperatura estándar (100 °C); t representa un tiempo (min); ω representa una constante (= 14,75).

30 De acuerdo con el método anterior, se puede suprimir la generación de xilosa y un producto de degradación excesiva del propio furfural, y se puede producir un xilopolisacárido modificado que conserva una estructura de cadena lateral derivada de las paredes celulares de las plantas.

35 Además, el mecanismo de control de paso está configurado preferiblemente para incluir un rotor en columna que puede girar alrededor de un eje central dispuesto en la dirección paralela a un flujo de la suspensión.

El mecanismo de control de paso incluye además una pluralidad de palas de control de paso que consisten en un miembro de placa dispuesto en una superficie lateral del rotor, dirigido hacia el exterior del rotor y extendido en la
40 dirección del flujo de la suspensión.

El mecanismo de control de paso anterior puede generar suficiente flujo pistón dentro del reactor y suprimir las reacciones secundarias debido a un parámetro de severidad mantenido constantemente que afecta a una materia prima, por lo que se puede producir un xilopolisacárido modificado sin una disminución en el rendimiento, a pesar de un aumento en la escala de producción.
45

Además, preferiblemente la distancia entre la pala de control de paso orientada hacia la pared interna del reactor de flujo pistón y dicha pared interna se puede establecer en 5 mm o menos.

50 La distancia puede evitar la sedimentación y retención de la suspensión, y la aparición de un paso anormal de la misma.

Además, preferiblemente el rotor puede pivotar de modo que la velocidad periférica del miembro de placa esté en el intervalo de 0,02 m/s a 0,3 m/s.

55 Este rango de velocidad puede alargar una ruta de migración de la suspensión, permitiendo la prevención del paso anormal y la sedimentación de la suspensión, así como la retención excesiva de la misma. Además, también se puede mejorar la eficiencia de conducción térmica. Como resultado, el reactor de flujo pistón puede diseñarse con un tamaño compacto.

60 Además, preferiblemente se puede formar un orificio pasante en el miembro de placa para que la suspensión pueda pasar a través de él en una dirección periférica del rotor.

Esta estructura puede generar pasajes suaves y complicados dentro del reactor, lo que permite obtener el flujo pistón sin alterar el flujo de la suspensión, lo que lleva a un mayor aumento en el rendimiento.

5 Además, preferiblemente como centro de pivote hay dispuesto un raspador que puede girar alrededor de una parte periférica del miembro de placa, y el raspador entra en contacto con una pared interna del reactor de flujo pistón mientras el rotor gira.

10 La estructura puede evitar la retención de la suspensión y la adhesión de materiales extraños (es decir, quemados) cerca de la pared interna dentro del reactor. Por lo tanto, se puede lograr un flujo pistón muy preciso sin verse afectado por las propiedades de la suspensión de materia prima y la escala del dispositivo.

15 Además, se hacen reaccionar al menos la β -xilosidasa purificada o la xilanasa con un xilopolisacárido modificado solubilizado en el reactor de flujo pistón. Esta reacción puede preservar un sustituyente en una cadena lateral del xilopolisacárido modificado, permitiendo que se produzcan xilooligosacáridos modificados.

20 Como se ha mencionado anteriormente, por ejemplo, los xilooligosacáridos muy acetilados (por ejemplo, mono-, di-, tri-, tetra- o penta-acetil-xilooligosacárido) y el monosacárido xilosa se pueden recoger en un tiempo de reacción corto, dejando un grupo acetilo derivado de paredes celulares de las plantas que se preserva en una cadena lateral. Además, por ejemplo, se pueden recoger xilooligosacáridos muy acetilados (por ejemplo, mono-, di-, tri-, tetra- o penta-acetil-xilooligosacárido), feruloil- α -L-arabinofuranosil-xilooligosacárido (FA-XOS) y p-coumaroil- α -L-arabinofuranosil-xilooligosacárido (CA-XOS). Además de esos oligosacáridos, adicionalmente pueden recogerse xilooligosacáridos modificados que tienen los sustituyentes descritos anteriormente tales como mono-, di- o tri-acetil-FA-XOS y mono-, di- o tri-acetil-CA-XOS.

25 Efecto de la invención

30 De acuerdo con la presente invención, se puede proporcionar un método para producir industrialmente en masa un xilopolisacárido modificado a partir de biomasa.

Breve descripción de los dibujos

35 La FIG. 1 es un diagrama del sistema que muestra un sistema de reacción de la presente realización.

La FIG. 2 es un diagrama de bloques que muestra los respectivos dispositivos usados para producir un xilopolisacárido modificado a partir de un material molido de biomasa en el sistema de reacción de la presente realización.

40 Las FIGS. 3A y 3B son diagramas que muestran estructuras internas del reactor dispuestas en el sistema de reacción de la presente realización. La FIG. 3A es un diagrama en sección transversal cuando se ve en la dirección vertical al flujo de la suspensión. La FIG. 3B es una vista transversal tomada a lo largo de la línea A-A de la FIG. 3A.

45 Las FIGS. 4A y 4B son diagramas que muestran estructuras internas del reactor dispuestas en el sistema de reacción de la presente realización. Son modificaciones que se muestran en las FIGS. 3A y 3B. La FIG. 4A es un diagrama en sección transversal cuando se ve en la dirección vertical al flujo de la suspensión. La FIG. 4B es una vista transversal tomada a lo largo de la línea B-B de la FIG. 4A.

La FIG. 5 es un diagrama gráfico que muestra las curvas de rendimiento de los productos representadas contra un parámetro de severidad cuando un material de mazorca de maíz se somete a una reacción hidrotérmica precisa por un reactor de tipo discontinuo de baja capacidad que puede controlar con precisión las condiciones de reacción.

50 La FIG. 6 es un diagrama gráfico que muestra la comparación de rendimientos cuando un material de mazorca de maíz se somete a una reacción hidrotérmica por el reactor de la presente realización para producir curvas obtenidas con precisión por el reactor de tipo discontinuo.

La FIG. 7 muestra los resultados analíticos de MALDI-TOF MS de las relaciones entre el grado de polimerización y el número de grupos acetilo del xilopolisacárido modificado producido por el reactor de la presente realización.

55 La FIG. 8 muestra los resultados analíticos de MALDI-TOF MS de la relación entre el grado de polimerización y el número de grupos acetilo del xilopolisacárido modificado producido al hacer que la β -xilosidasa (GH43) actúe sobre el xilopolisacárido modificado producido por el reactor de la presente realización.

La FIG. 9 muestra los resultados analíticos de MALDI-TOF MS de las relaciones entre el grado de polimerización y el número de grupos acetilo del xilopolisacárido modificado producido al hacer que la endo- β -1,4-xilanasa (GH10) actúe sobre el xilopolisacárido modificado producido por el reactor de la presente realización.

60 La FIG. 10 muestra los resultados analíticos de MALDI-TOF MS de las relaciones entre el grado de polimerización y el número de grupos acetilo del xilopolisacárido modificado producido al hacer que la endo- β -1,4-xilanasa (GH11) que actúe sobre el xilopolisacárido modificado.

65 Realizaciones para llevar a cabo la invención

A continuación, se describirán en detalle los aspectos (o realizaciones) para llevar a cabo la presente invención

haciendo referencia apropiadamente a los dibujos adjuntos. Téngase en cuenta que un "xilopolisacárido modificado" es un polisacárido compuesto por xilosas unidas a glucósidos (es decir, xilopolisacárido). El xilopolisacárido modificado representa un polisacárido en el que los sustituyentes (por ejemplo, el grupo acetilo) están presentes en sus cadenas laterales.

5 Además, en la presente realización, el flujo pistón es un flujo extruido de modo que se hace que una suspensión fluya en la misma distribución de velocidades dentro de un reactor 12. Específicamente, en un reactor de flujo pistón, se evita que se mezclen las subcapas de la suspensión que fluye, y se evita el paso anormal y la retención de la suspensión, permitiendo que la suspensión fluya a una velocidad constante.

10 Por lo tanto, la suspensión introducida al reactor 12 se extruye sucesivamente sin permanecer dentro del reactor 12, descargándose así desde el reactor 12. Esta característica permite que toda la suspensión se caliente uniformemente sin excepción en el reactor 12, y que tenga lugar una reacción hidrotérmica en condiciones uniformes, produciendo así un xilopolisacárido modificado.

15 En el presente documento, el término "flujo pistón" en la presente realización significa que se genera un flujo pistón sustancial (es decir, condiciones de flujo pistón, estado de flujo pistón) en todo el interior del reactor 12. En este caso, pueden generarse la turbulencia y la retención parciales del flujo de la suspensión siempre que dicha turbulencia y retención parciales no deterioren significativamente la curva de rendimiento del xilopolisacárido modificado. Por lo tanto, no hace falta decir que el "flujo pistón" en la presente realización puede ser un "flujo pistón" teórico e ideal que no genera turbulencias y retención del flujo de la suspensión, pero no se limita al "flujo pistón" teórico e ideal.

<Estructura del equipo del sistema de reacción 100>

25 La FIG. 1 es un diagrama del sistema que muestra un sistema de reacción 100 en la presente realización. Además, la FIG. 2 es un diagrama de bloques que muestra los respectivos dispositivos utilizados para obtener un xilopolisacárido modificado a partir de un material molido de biomasa en el sistema de reacción 100 de la presente realización. Los números de referencia que se muestran en la FIG. 2 son idénticos a los de la FIG. 1.

30 En el sistema de reacción 100, se puede obtener un xilopolisacárido modificado que conserva los sustituyentes como un producto de hidrólisis de xilano a partir de una materia prima de biomasa que contiene xilano en las paredes celulares de las plantas. En el presente documento, xilano tiene al menos un tipo de sustituyentes seleccionados de un grupo acetilo, un grupo feruloil arabinofuranosilo y un grupo cumaroil arabinofuranosilo en sus cadenas laterales. El xilopolisacárido modificado se produce en el reactor 12. En consecuencia, el xilopolisacárido modificado se puede producir particularmente por el reactor 12 mientras se evita la generación de xilosa y el producto de descomposición excesiva de xilosa: furfural.

40 La biomasa utilizada en el sistema de reacción 100 se obtiene, por ejemplo, de plantas tales como una mazorca de maíz que está disponible como subproducto agrícola en cantidades relativamente grandes, y contiene xilano en las paredes celulares de las plantas. También se encuentran grandes cantidades de xilano en las paredes celulares de las plantas de los residuos de procesamiento de alimentos de productos agrícolas como la mazorca de maíz y el bagazo de la caña de azúcar, y la biomasa blanda como el sorgo y el erianthus. Además, en las paredes celulares de plantas a base de madera de un árbol de hoja ancha y una madera para pulpa están contenidas grandes cantidades de xilano.

50 El sistema de reacción 100 incluye una unidad de alimentación de material 1, un reactor 2 y una unidad de descarga de material 3. La unidad de alimentación de material 1 suministra un material molido de biomasa al reactor 2, en el que el material molido de biomasa se utilizará como materia prima de un xilopolisacárido modificado. El reactor 2 produce el xilopolisacárido modificado a partir de una suspensión que contiene el material molido de biomasa así introducido a la unidad de alimentación de material 1. La unidad de descarga de material 3 descarga el xilopolisacárido así producido.

55 A continuación, se describirán en detalle las estructuras de los respectivos dispositivos siguiendo un flujo de procesamiento de los materiales que comienza desde el material molido de biomasa introducido a la unidad de alimentación de material 1 hasta la producción del xilopolisacárido modificado descargado desde la unidad de descarga de material 3.

60 La unidad de alimentación de material 1 está configurada para incluir un dispositivo de mezcla de material 5 y un tanque de alimentación de material 8. Primero, el material molido de biomasa se suministra al dispositivo de mezcla de material 5. El tamaño del material molido de biomasa introducido a la unidad de alimentación de material 1 es preferiblemente de 5 μm o más como diámetro medio de partícula, más preferiblemente de 20 μm o más, aún más preferiblemente de 30 μm o más. Su límite superior es preferiblemente de 1000 μm o menos, más preferiblemente de 60 μm o menos, aún más preferiblemente de 40 μm o menos.

65 El diámetro medio de partícula se mide mediante un dispositivo de medición del diámetro de partícula de tipo

dispersión por difracción láser (Nikkiso Co., Ltd.: MT3300). En el dispositivo de mezcla de material 5, el material molido de biomasa se mezcla con agua de enfriamiento a temperatura media (aproximadamente 100 °C o menos) procedente de un enfriador 14 que se describirá más adelante, para formar una suspensión fluida. El suministro del agua de refrigeración a temperatura media desde el enfriador 14 se controla mediante la operación de apertura/cierre de una válvula 143. A continuación, la suspensión así formada se introduce en un tanque de alimentación de material 8.

El tanque de alimentación de material 8 está provisto de un termostato y palas agitadoras usadas para evitar la sedimentación. Debido a esas partes, la suspensión se almacena en el tanque de alimentación de material 8 bajo agitación mientras se mantiene adecuadamente su temperatura. Téngase en cuenta que las palas de agitación están controladas por un motor 8a controlado por un inversor. Como se describe más adelante, el agua de refrigeración a temperatura media (aproximadamente 100 °C) introducida desde un enfriador 14 se suministra al tanque de alimentación de material 8, pero sus detalles se describirán más adelante.

Los materiales almacenados en el tanque de alimentación de material 8 son suministrados al reactor 2 después de que su caudal sea controlado por un par de bombas: una bomba de refuerzo 9A utilizada para extraer el material y una bomba de aumento de presión 9B. La bomba de refuerzo 9A es accionada por un motor controlado por un inversor 9Aa. Además, la bomba de aumento de presión 9B es accionada por un motor controlado por un inversor 9Ba.

En el presente documento, una parte de los materiales almacenados en el tanque de alimentación de material 8 se descarga al exterior abriendo/cerrando una válvula 7. Además, aparte del material almacenado en el tanque de alimentación de material 8, al reactor 2 se suministra agua de enfriamiento a alta temperatura (aproximadamente 120 °C-180 °C) introducida desde un enfriador 13 como se describe más adelante, pero los detalles se describirán más adelante.

El reactor 2 está configurado para incluir un elevador térmico de tipo tubular 10 que eleva la temperatura de una suspensión, un reactor cilíndrico 12 que produce un xilopolisacárido modificado a partir de xilano (es decir, que tiene un sustituyente en cadenas moleculares) en la suspensión, un calentador 17 que calienta el interior del elevador térmico 10 y el reactor 12, y los enfriadores de 3 etapas (es decir, el enfriador primario 13, el enfriador secundario 14 y el enfriador terciario 15). Cuando se suministra una suspensión al elevador térmico 10, la suspensión mezclada con agua de enfriamiento a alta temperatura (aproximadamente 120 °C o 180 °C) que fluye desde el reactor 12 descrito más adelante se suministra al elevador térmico 10. Esta construcción mejora la temperatura eficiencia del sistema de reacción 100.

En el presente documento, el valor calorífico se controla por retroalimentación mediante el calentador 17 y la cantidad de alimentación del agua de enfriamiento a alta temperatura en función de las temperaturas medidas por los sensores de temperatura (no mostrados) dispuestos en el elevador térmico 10 y el reactor 12.

En el elevador térmico 10 y el reactor 12, se lleva a cabo una reacción hidrotérmica mientras se genera un flujo pistón de la suspensión que pasa sucesivamente a través de su interior. Los detalles se describirán más adelante haciendo referencia a la FIG. 2. Además, el elevador térmico 10 y el reactor 12 tienen la misma estructura. En el presente documento, la estructura se explicará como un ejemplo del reactor 12. Dentro del reactor, hay dispuesto un eje 19 (véanse FIGS. 3A y B; no mostrado en las FIGS. 1 y 2). El eje 19 está conectado a un motor controlado por un inversor 12b. Téngase en cuenta que, en la presente realización, el elevador térmico 10 y el reactor 12 están dispuestos independientemente. Sin embargo, la disposición del elevador térmico 10 puede omitirse haciendo que el reactor 12 asuma la función del elevador térmico 10.

Además, un miembro de disco en forma de disco 12a usado para sellar el interior del reactor 12 está unido a un extremo del reactor 12. El eje 19 conectado al motor 12b está dispuesto cerca del centro del miembro de disco 12 de modo que el eje 19 pasa a través del interior y el exterior del reactor 12. En el miembro de disco 12, una unidad de presión de aceite 21 asegura el rendimiento hermético de un sello de eje 12c dispuesto en una porción deslizante del eje 19 que pasa a través del reactor 12. Téngase en cuenta que el agua de enfriamiento se introduce a la unidad de presión de aceite 21 para enfriar el calor generado por la operación hidráulica. La circulación del agua de enfriamiento se controla abriendo/cerrando las válvulas 210 y 211. Las estructuras internas del elevador térmico 10 y el reactor 12 se describirán más adelante haciendo referencia a la FIG. 2 y siguientes.

Una suspensión se calienta rápidamente hasta aproximadamente 200 °C, que es una temperatura preestablecida de la reacción hidrotérmica en el elevador térmico 10. A continuación, la suspensión así calentada se introduce al reactor 12, de modo que tiene lugar una reacción de formación (es decir, reacción hidrotérmica bajo condiciones de flujo pistón) de un xilopolisacárido modificado durante un tiempo predeterminado en el reactor 12.

La suspensión tratada en el elevador térmico 10 y el reactor 12 circula a través del enfriador primario 13, el enfriador secundario 14 y el enfriador terciario 15 en este orden, enfriándose así a aproximadamente 40 °C o menos. Téngase en cuenta que, en las siguientes descripciones, "un enfriador primario 13" se denomina simplemente "un enfriador 13", un enfriador secundario 14 se denomina simplemente "un enfriador 14", y "un enfriador terciario 15" se

ES 2 770 305 T3

denomina simplemente "un enfriador 15", para simplificar las descripciones.

La suspensión así enfriada a aproximadamente 40 °C o menos en los enfriadores 13, 14 y 15 se suministra a la unidad de descarga de material 3. Téngase en cuenta que una parte de la suspensión enfriada se descarga al exterior a través de una válvula 161, y el resto se suministra a la unidad de descarga de material 3.

Todos esos enfriadores 13, 14 y 15 son intercambiadores de calor configurados por una tubería doble (no se muestra). El agua de refrigeración se suministra a los enfriadores 13, 14 y 15 desde rutas independientes para que el agua de refrigeración circule a través de los enfriadores, respectivamente. Más específicamente, el agua de refrigeración cuya circulación está controlada por una válvula 130 se suministra al enfriador 13. El agua de refrigeración cuya circulación está controlada por una válvula 140 se suministra al enfriador 14. Además, el agua de refrigeración cuya circulación está controlada por una la válvula 150 se suministra al enfriador 15.

Además, el intercambio de calor con la suspensión da como resultado la producción de agua calentada (es decir, agua de enfriamiento usada), y se descargan diferentes tipos de agua de enfriamiento que tienen diferentes temperaturas desde los enfriadores 13, 14 y 15 de 3 etapas, respectivamente. Por lo tanto, la suspensión suministrada al enfriador 13 de la etapa superior tiene una temperatura alta. De este modo, el agua de enfriamiento usada descargada del enfriador 13 (es decir, agua de enfriamiento a alta temperatura) tiene la temperatura más alta. Por consiguiente, como se ha mencionado anteriormente, el agua de enfriamiento a alta temperatura se suministra a la suspensión que se debe suministrar al elevador térmico 10.

En ese momento, el agua de enfriamiento a alta temperatura se suministra cerrando una válvula 132. En contraste, cuando el agua de enfriamiento a alta temperatura no se suministra a la suspensión, el agua de enfriamiento a alta temperatura se descarga hacia afuera abriendo la válvula 132.

Además, el agua de enfriamiento usada descargada del enfriador 14 de la etapa intermedia (es decir, agua de enfriamiento de temperatura media) se suministra al dispositivo de mezcla de material 5 y al tanque de alimentación de material 8 como se ha mencionado anteriormente en este documento.

En ese momento, cuando el agua de enfriamiento de temperatura media se suministra al dispositivo de mezcla de material 5 y al tanque de alimentación de material 8, el agua de enfriamiento se suministra abriendo una válvula 141 bajo unas condiciones en que la válvula 142 está cerrada.

Por el contrario, cuando el agua de refrigeración a temperatura media no se suministra al dispositivo de mezcla de material 5 y al dispositivo de alimentación de material 8, el agua de refrigeración a temperatura media se descarga al exterior abriendo la válvula 142 bajo unas condiciones en que la válvula 141 está cerrada.

Además, el agua de enfriamiento usada descargada del enfriador 15 de la etapa tardía (es decir, agua de enfriamiento a baja temperatura) se descarga al exterior abriendo una válvula 151.

En el presente documento, el agua de enfriamiento a alta temperatura y el agua de enfriamiento a baja temperatura se suministran desde los enfriadores 13, 14 y 15, de modo que la concentración de contenido sólido de la suspensión que se va a suministrar al reactor 12 está en el rango del 10 % en masa al 30 % en masa.

La unidad de descarga de material 3 está configurada para incluir tanques de descompresión paralelos 22a y 22b, y un tanque de descarga de material 23 y así sucesivamente. Los tanques de descompresión 22a y 22b se usan para liberar presión de la suspensión (es decir, suspensión presurizada) descargada desde el reactor 2, y descargar la suspensión en un ambiente bajo presión atmosférica. Los tanques de descompresión 22a y 22b están conectados con válvulas de conmutación de material 24a, 24b, 27a y 27b; válvulas de aire de compresión 25a y 25b; válvulas de ventilación 26a, 26b; una válvula de sellado a presión 27; y una válvula de descarga de material 29, respectivamente.

Cuando esos componentes se controlan juntos, la suspensión se almacena en los tanques de descompresión 22a y 22b mientras se mantiene la presión de aire dentro del reactor 12 mediante aire de compresión.

Más específicamente, la operación se controla de modo que la suspensión del reactor 2 se introduzca a través de la válvula de conmutación de material 24a al tanque de descompresión 22a, y la presión de aire del tanque de descompresión 22a sea igual a la presión del reactor 12 por la válvula de ventilación 26. En ese momento, todas las demás válvulas en la unidad de descarga de material 3 están cerradas.

En las condiciones anteriores, cuando el tanque de descompresión 22a se llena con la suspensión, la válvula de conmutación de material 24a se cierra y la válvula de conmutación de material 24b y la válvula de ventilación 26b se abren. La suspensión del reactor 2 se introduce a través de la válvula de conmutación de material 24b al tanque de descompresión 22b. La operación se controla de modo que la presión de aire del tanque de descompresión 22b sea igual a la presión del reactor 12 por la válvula de ventilación 26b.

- Por otro lado, el tanque de compresión 22a lleno de la suspensión se controla para descargar la suspensión al exterior. Más específicamente, primero, la válvula de ventilación 26a conectada al tanque de descompresión 22a se abre gradualmente, por lo que el gas dentro del tanque de descompresión 22a se descarga al exterior. Como resultado, la presión dentro del tanque de descompresión 22a se reduce a un nivel de presión al que se puede
- 5 descargar la suspensión. A continuación, cuando se baja la presión dentro del tanque de descompresión 22a, se hace que la válvula de descarga 27a y una válvula de ajuste del caudal 28 se abran. La suspensión dentro del tanque 22a se introduce al tanque de descarga de material 23. Como resultado, la suspensión así introducida al tanque de descarga de material 23 se almacena en el tanque de descarga de material 23.
- 10 Cuando toda la suspensión dentro del tanque de descompresión 22a se introduce al tanque de descarga de material 23, la válvula de ajuste del caudal 28 y la válvula de descarga de material 27a se cierran, y la válvula de aire de compresión 25a se abre para introducir el aire de compresión en el tanque de compresión 22a. A continuación, cuando la presión dentro del tanque de descompresión 22a y la presión dentro del reactor 12 se vuelven iguales, la válvula de aire de compresión 25a se cierra para que entre en un estado de espera.
- 15 A continuación, la suspensión dentro del tanque de compresión 22b se introduce al tanque de descarga de material 23 de manera similar al tanque de compresión 22a. Como se ha mencionado anteriormente, las etapas de descargar la suspensión del tanque de descarga de descompresión 22a y descargar la suspensión del tanque de descarga de descompresión 22b se realizan alternativamente, de modo que toda la suspensión se suministra al tanque de
- 20 descarga de material 23 mientras se mantiene la presión interna del reactor 12. En consecuencia, la suspensión que incluye un xilopolisacárido modificado se descarga desde el tanque de descarga de material 23 abriendo la válvula de descarga de material 29.
- Como se ha mencionado anteriormente, la presión interna del reactor 12 se mantiene, lo que permite que la reacción hidrotérmica se realice con mayor seguridad en el reactor 12, produciendo así un xilopolisacárido modificado. Además, la unidad de descarga de material 3 puede ser una unidad de tipo flujo, además del reactor de tipo flujo 12. Esto puede hacer que todo el sistema de reacción 100 sea un sistema de tipo flujo completo.
- 25
- <Estructura del reactor 12>
- 30 Las FIGS. 3A y 3B son diagramas que muestran la estructura interna del reactor 12 dispuesto en el sistema de reacción de la presente realización. La FIG. 3A es un diagrama en sección transversal cuando se ve en la dirección vertical a la dirección del flujo de la suspensión.
- 35 La FIG. 3B es una vista transversal tomada a lo largo de la línea A-A de la FIG. 3A. Téngase en cuenta que el reactor 12 mostrado en las FIGS. 3A y 3B es simplemente un ejemplo de un dispositivo utilizable para operar un sistema colector 100 de la presente realización. Por lo tanto, siempre que el reactor sea un reactor cilíndrico de flujo pistón que incluye un mecanismo de control de paso que genera flujo pistón dentro del reactor, para ello se puede utilizar cualquier reactor. Téngase en cuenta que, como se ha mencionado anteriormente, puesto que la estructura
- 40 interna del elevador térmico 10 es la misma que en las FIGS. 3A y 3B, en las siguientes descripciones, solo se explicará la estructura interna del reactor 12 para omitir las explicaciones duplicadas.
- Como se muestra en las FIGS. 3A y 3B, el reactor 12 está configurado para incluir una tubería hueca (o cilindro) 11; un eje en columna 19 dispuesto dentro de la tubería 11 y que gira sobre un pivote central paralelo a la dirección del
- 45 flujo de la suspensión; y palas de control de paso dispuestas en la superficie externa del eje 19. Además, el eje 19 está conectado a un motor 12b como se ha mencionado anteriormente. Esta construcción permite la rotación del eje 19 y las palas de control de paso 16 asociadas con el movimiento del motor 12b. La dirección de rotación se muestra como una flecha C en la FIG. 3B. Sin embargo, la dirección puede ser la inversa.
- 50 Además, el extremo de la tubería 11 (es decir, el extremo en la dirección izquierda del dibujo) se puede liberar. Sin embargo, cuando se opera el reactor 12, el miembro de disco 12a sella el interior de la tubería como se ha mencionado anteriormente. El miembro de disco 12a se sujeta a una parte de brida de la tubería 11 usando pernos 12d y tuercas 12e. Una junta tórica está dispuesta entre el miembro de disco 12a y la parte de brida. Además, un sello de eje 12c está dispuesto en el exterior del miembro de disco 12 para sellar el miembro de disco 12a y el eje
- 55 19.
- La pala de control de paso 16 está configurada para controlar el paso de una suspensión (o flujo de una suspensión) dentro del reactor 12. En la presente realización, la suspensión se calienta uniformemente por la rotación del eje 19 que tiene las palas de control de paso 16. Por lo tanto, esas partes (o mecanismo de control de paso como se ha descrito anteriormente) pueden denominarse "medios de calentamiento uniforme". La pluralidad de palas de control
- 60 de paso 16 están dispuestas en una superficie periférica del eje 19. En el reactor 12, especialmente la pluralidad de palas de control de paso 16 están dispuestas extendiéndose en las cuatro direcciones con intervalos de 90° en la vista en sección transversal mostrada en la FIG. 3B.
- 65 Esta construcción permite la generación de un flujo pistón suficiente dentro del reactor 12. Además, se evitan las reacciones secundarias porque el parámetro de severidad que afecta a la materia prima se mantiene

constantemente, por lo que se puede obtener un xilopolisacárido modificado sin una disminución en el rendimiento a pesar de un aumento en la escala de producción.

5 La pala de control de paso 16 está formada por el miembro de placa 16a dirigido hacia afuera desde el eje 19 y que se extiende en la dirección paralela al flujo de la suspensión. El miembro de placa 16a puede tener un espesor, por ejemplo, en el intervalo de 3 mm a 15 mm. Además, la pala de control de paso 16 (es decir, el miembro de placa 16a) dispuesta en una superficie lateral del eje 19 puede tener un ancho (es decir, longitud en la dirección del flujo de la suspensión), por ejemplo, en el intervalo de 50 mm a 150 mm.

10 El reactor 12 tiene las siguientes dimensiones. La tubería 11 puede tener un diámetro interno, por ejemplo, en el intervalo de 50 mm a 300 mm. Además, el reactor 12 puede tener una longitud (es decir, longitud en la dirección del flujo), por ejemplo, que varía de 500 mm a 3000 mm. Además, el eje 19 dispuesto dentro del reactor 12 puede tener un diámetro, por ejemplo, que varía de 30 mm a 200 mm.

15 Convencionalmente, un reactor que tiene las dimensiones descritas anteriormente puede tratar una suspensión solo a una tasa de aproximadamente 400 l/día si las condiciones de circulación de la suspensión son las mismas. Por el contrario, el reactor 12 de la presente realización puede tratar una suspensión a una tasa de aproximadamente 40000 l/día (es decir, 28 l/min) en una planta grande. Además, cuando la suspensión se trata a una tasa de aproximadamente 40000 l/día, por ejemplo, se produce un xilopolisacárido modificado a una tasa de
20 aproximadamente 1800 kg/día (Téngase en cuenta: convencionalmente, aproximadamente 18 kg/día).

Además, en el miembro de placa 16a, se forma una parte hueca 16b (es decir, un orificio pasante) para que la suspensión pueda pasar a través de ella en la dirección periférica del eje 19. La formación de la parte hueca 16b permite la formación de pasajes suaves y complicados dentro del reactor 12, lo que permite la generación de flujo
25 pistón sin alterar el flujo de la suspensión, lo que da como resultado un mayor aumento en el rendimiento.

La forma y el tamaño de la parte hueca 16b formada en el miembro de placa 16a no están limitados específicamente. Sin embargo, cuando la parte hueca 16b tiene una forma rectangular, la longitud (es decir, longitud en la dirección de flujo de la suspensión) de la parte hueca 16b puede estar, por ejemplo, en el intervalo de 20 mm a
30 130 mm. Además, la altura (es decir, longitud dirigida hacia afuera desde el eje 19) de la parte hueca 16b puede estar, por ejemplo, en el intervalo de 30 mm a 200 mm.

Con respecto al tamaño del paso que controla la pala 16, la distancia d (véase FIG. 3A) entre una pared interna de la tubería 11 y una parte periférica 16c de la pala de control de paso 16 es de 5 mm o menos en la presente
35 realización. Esta construcción evita la sedimentación y la retención de la suspensión, permitiendo la generación de un flujo pistón mucho mejor.

En la presente realización, la reacción dentro del reactor 12 se controla mediante un índice del parámetro de severidad con el fin de generar un flujo pistón dentro del reactor 12. Más específicamente, la temperatura y el tiempo
40 de reacción se controlan de modo que el parámetro de severidad R_0 llegue al rango de 3000 a 7000. En el presente documento, el parámetro de severidad R_0 se calcula con la siguiente ecuación (1) bajo unas condiciones: a una temperatura de 160 °C o más, a una presión igual o mayor que una presión de vapor saturada a dicha temperatura.

$$R_0 = \int_0^t \exp \left(\frac{T(t) - T_r}{\omega} \right) dt$$

-----Ecuación (1)

45 donde T (t) representa una variación con el tiempo de la temperatura (°C);
Tr representa una temperatura estándar (100 °C), t representa un tiempo (min) y ω representa una constante (= 14,75).

50 Cuando la presión se ajusta a la presión de vapor saturado o superior y la temperatura se ajusta a 160 °C o más, se genera una reacción hidrotérmica dentro del reactor 12. En el presente documento, el parámetro de severidad es un parámetro obtenido al convertir los datos históricos del calor y tiempo, que han impuesto la suspensión en condiciones de reacción hidrotérmica de 100 °C o más, en un valor energético. Por lo tanto, controlar la reacción mediante el parámetro de severidad R_0 permite la generación de la reacción hidrotérmica en las condiciones de
55 reacción precisas para obtener un xilopolisacárido modificado.

La velocidad de rotación del eje 19 dispuesto dentro del reactor 12 se ajusta de modo que la velocidad periférica de la periferia 16c de la pala de control de paso 16 esté en el rango de 0,02 m/s a 0,3 m/s. Ajustar la velocidad de rotación de la periferia 16c a 0,02 m/s o más puede evitar la sedimentación y la retención de un contenido sólido de
60 la suspensión y suprimir suficientemente las reacciones secundarias.

Alternativamente, ajustar la velocidad de rotación de la periferia 16c a 0,03 m/s o menos permite que el estado de

flujo pistón se mantenga lo suficiente y evita una reacción secundaria generada por un paso anormal y una reacción excesiva debido a la retención de la suspensión. Esto da como resultado un rendimiento suficientemente alto. Además, ajustar la velocidad de rotación del eje 19 en el rango anterior puede alargar la ruta de migración de la suspensión. Este alargamiento puede evitar un paso anormal y la sedimentación de la suspensión, así como una retención excesiva. Además, el resultado de aumentar el área de conducción de calor puede mejorar la eficiencia de conducción de calor, permitiendo un diseño compacto del reactor 12.

Las FIGS. 4A y 4B son diagramas que muestran la estructura interna de un reactor 12A dispuesto en el sistema de reacción 100 de una realización de la presente invención. El reactor 12A es una modificación del reactor que se muestra en las FIGS. 3A y 3B. La FIG. 4A es un diagrama en sección transversal cuando se ve en la dirección vertical al flujo de la suspensión. La FIG. 4B es una vista transversal tomada a lo largo de la línea B-B de la FIG. 4A. El reactor 12A mostrado en la FIG. 4A incluye un soporte 18, un miembro de raspado 20a y un miembro de presión 20b.

El soporte 18 es parte de un miembro de placa 16a para soportar el miembro de raspado 20. El miembro de raspado 20a está unido de forma giratoria a los soportes 18 que están dispuestos en las periferias de los miembros de placa 16a (es decir, entre el par de soportes 18) por pernos 20c. El miembro de presión 20b evita que el miembro de raspado 20a caiga giratoriamente al eje 19 por gravedad. Téngase en cuenta que el miembro de presión 20 forma parte del miembro de placa 16a. Además, se forma una parte hueca 16b entre el miembro de presión 20b y el eje 19.

En el reactor 12A, el miembro de raspado 20a es accionado a medida que el eje 19 gira. Es decir, como se muestra en la FIG. 4B, el miembro de raspado 20a ubicado debajo del eje 19 cae hacia abajo en la dirección vertical para entrar en contacto con la pared interna de la tubería 11. En este estado, cuando el eje 19 se gira en la dirección de la flecha D, la rotación del eje 19 continúa mientras el miembro de raspado 20a entra en contacto con la pared interna donde la suspensión se retiene fácilmente por la tubería 11. Este mecanismo evita que la suspensión se retenga cerca de la pared interna del reactor 12, permitiendo generar un flujo pistón muy preciso sin verse afectado por una propiedad de la suspensión y la escala del sistema.

<Investigación comparativa de rendimientos entre el Reactor de tipo discontinuo y el Reactor 12 de la presente realización>

(Investigación del rendimiento en el reactor de tipo discontinuo>

A continuación, se produjeron xilopolisacáridos modificados mediante un reactor de tipo discontinuo (no mostrado) capaz de controlar con precisión una reacción hidrotérmica, y un reactor 12 mostrado en las FIGS. 3A y 3B con el propósito de investigar los efectos de los reactores 12 y 12A capaces de generar flujo pistón.

Primero, se preparó una suspensión para que los materiales molidos de la harina de mazorca de maíz (hecha en Tailandia) tuvieran una concentración de contenido sólido del 13,0 % en masa. A continuación, la suspensión resultante (30 ml) se colocó en un reactor hidrotérmico de tipo discontinuo SUS316 (capacidad de 50 ml, Taiatsu Techno). A continuación, la reacción hidrotérmica se realizó usando baños de sal a tres niveles de temperatura de 180 °C, 190 °C y 200 °C para un tiempo de reacción opcional que varía de 0 a 24 min, con un parámetro de severidad R_0 que varía de 0 a 20.000 calculado por la ecuación (1).

Específicamente, las suspensiones se sometieron a varios parámetros de severidad R_0 seleccionando cualquier temperatura de 180 °C, 190 °C y 200 °C, y opcionalmente cambiando el tiempo de reacción a la temperatura seleccionada. Téngase en cuenta que los parámetros de severidad reales impuestos a las suspensiones se calcularon midiendo realmente los historiales de temperatura dentro del reactor hidrotérmico usando un termopar durante la reacción hidrotérmica.

Una vez completada la reacción hidrotérmica, el propio reactor hidrotérmico se enfrió rápidamente con agua fría, y los productos así obtenidos se analizaron por HPLC. Más específicamente, se midieron los contenidos de xilopolisacárido modificado (es decir, que incluye oligosacáridos con un grado de polimerización de 2 o más, que varía de aproximadamente 2 a 12), xilosa y furfural con respecto a las fracciones solubles de la suspensión así producidas después de la reacción hidrotérmica.

Además, las cantidades del xilano sin reaccionar se calcularon en base a las cantidades de xilosa así producidas por la descomposición del ácido sulfúrico, con respecto a las fracciones insolubles de la suspensión espesa así producidas después de la reacción hidrotérmica. Además, como enfoque teórico, se calcularon los rendimientos teóricos (es decir, el rendimiento de producción de cada componente cuando el xilano se descompuso por completo) del xilopolisacárido modificado, la xilosa y el furfural por los resultados analíticos avanzados de la composición de sacárido de la mazorca de maíz. En el presente documento, los resultados analíticos avanzados se habían obtenido de antemano usando un método de descomposición hidrolítica ácida.

La FIG. 5 es un diagrama gráfico que muestra las curvas de rendimiento de los productos representadas contra un

parámetro de severidad cuando un material de mazorca de maíz se somete a una reacción hidrotérmica precisa por un reactor de tipo discontinuo de baja capacidad que puede controlar con precisión las condiciones de reacción. Un símbolo de ● representa un rendimiento de xilano; un símbolo de A representa un rendimiento del xilopolisacárido modificado; un símbolo de ▼ representa un rendimiento de xilosa; y un símbolo de ■ representa un rendimiento de furfural, respectivamente. En el presente documento, se dibujaron curvas aproximadas basadas en las gráficas de los componentes respectivos. Las ecuaciones experimentales de los componentes respectivos son las siguientes.

Xilano:

$$Y = 2,77 \times 10^{-23} X^6 - 2,05 \times 10^{-18} X^5 + 6,16 \times 10^{-14} X^4 - 9,64 \times 10^{-10} X^3 + 8,42 \times 10^{-6} X^2 - 4,05 \times 10^{-2} X + 1,00 \times 10^2$$

Xilopolisacárido modificado:

$$Y = -1,95 \times 10^{-23} X^6 + 1,58 \times 10^{-18} X^5 - 5,16 \times 10^{-14} X^4 + 8,95 \times 10^{-10} X^3 - 8,80 \times 10^{-6} X^2 + 4,08 \times 10^{-2} X + 6,25 \times 10^{-1}$$

Xilosa:

$$Y = 1,23 \times 10^{-19} X^5 - 5,99 \times 10^{-15} X^4 + 8,68 \times 10^{-11} X^3 - 3,29 \times 10^{-7} X^2 + 1,11 \times 10^{-3} X - 1,01 \times 10^{-2}$$

Furfural:

$$Y = -3,10 \times 10^{-16} X^4 + 9,39 \times 10^{-12} X^3 - 1,24 \times 10^{-8} X^2 + 2,18 \times 10^{-4} X - 5,53 \times 10^{-2}$$

Téngase en cuenta que, en las ecuaciones anteriores, X representa un parámetro de severidad e Y representa un rendimiento.

El xilano se hidroliza gradualmente después de un aumento en el parámetro de severidad, produciendo así el xilopolisacárido modificado y la xilosa, y más furfural que es un hidrolizado en exceso de xilosa. Cuando el parámetro de severidad excede 2600, el rendimiento teórico del polisacárido modificado excede el 60 %, y el rendimiento muestra un valor máximo del 68,3 % alrededor del parámetro de severidad de 4700. A continuación, a medida que el parámetro de severidad aumenta aún más, el xilopolisacárido modificado se descompone hidrolíticamente aún más, lo que resulta en una disminución en el rendimiento. Finalmente, a medida que el parámetro de severidad excede 7500, el rendimiento nuevamente cae por debajo del 60 % y simultáneamente se incrementan las concentraciones de xilosa y furfural.

Como se muestra en la FIG. 5, se determinó que la relación entre el parámetro de severidad de la reacción hidrotérmica y el rendimiento de cada componente era extremadamente alta independientemente de las temperaturas de reacción preestablecidas. Es decir, aunque se establecieron opcionalmente una temperatura y un tiempo al controlar un parámetro de severidad R_0 , se obtuvo una relación tan alta al representar los rendimientos frente a los parámetros de severidad en lugar de las temperaturas y los tiempos. En el presente documento, los rendimientos de xilosa y furfural se suprimieron suficientemente cuando el parámetro de severidad estaba en el rango de 3000 a 7000 como indica la línea de espesor medio. Además, en ese intervalo, el xilopolisacárido modificado se recogió con un alto rendimiento.

Aunque no se ha mostrado, de manera similar al análisis anterior, se representaron los rendimientos obtenidos por un reactor de tipo tubular convencional. Como resultado, las curvas de rendimiento fueron idénticas a las de la FIG. 5 en el rango de 3000 a 7000 del parámetro de severidad. Téngase en cuenta que el reactor de tipo tubular convencional se ha desvelado en la patente JP2008-253861 descrita en el presente documento anteriormente; ϕ : 25 mm, longitud del elevador térmico: 8 m, capacidad del elevador térmico: 4000 ml, longitud del reactor: 4 m, capacidad: 2000 ml, velocidad de tratamiento estándar: 300 ml/min (variable).

(Investigación de rendimientos en el reactor 12 de la presente realización)

A continuación, se probó una reacción hidrotérmica utilizando harina de mazorca de maíz (hecha en Tailandia) en el sistema de reacción provisto con el reactor 12 mostrado en las FIGS. 3A y 3B en el reactor 12, con la tubería 11 que tenía un diámetro interno de ϕ 140 mm, una longitud de 2200 mm (longitud en la dirección del flujo de la suspensión), y el eje 19 tenía un diámetro de ϕ 62 mm. Además, la pala de control de paso 16 tenía un espesor de 10 mm (espesor en la dirección vertical al flujo de la suspensión).

En el presente documento, en la pala de control de paso 16, se formó una parte hueca rectangular 16b como se muestra en las FIGS. 3A y 3B. La parte hueca 16b tenía las siguientes dimensiones: un ancho de 200 mm (longitud en la dirección del flujo de la suspensión), una altura de 40 mm (longitud dirigida hacia afuera desde el eje 19) y un espesor de 10 mm. Además, la pala de control de paso 16 tenía una distancia de 2 mm, entre la periferia 16c y la pared interna de la tubería 11. Las dimensiones anteriores proporcionaron al reactor 12 una capacidad efectiva de 24 l.

Un molino de bolas molió una mazorca de maíz para que el diámetro medio de partícula estuviera en el rango de 30 μ m a 60 μ m medido por el analizador descrito anteriormente. Se añadió agua tibia al material molido para preparar

un material de partida del tipo de suspensión. Se ajustó la temperatura y el caudal de la bomba del calentador 17 en el reactor 12 para ajustar la temperatura de reacción en un rango de 180 °C a 200 °C, y el tiempo de retención dentro del reactor 12 en un rango de 9 min a 17 min.

5 A continuación, como suspensión a introducir, se hizo pasar una suspensión de mazorca de maíz con un contenido sólido del 15,7 % en masa al 18,6 % en masa a través del reactor 12, y se observó el progreso de la reacción. Se hizo pasar la suspensión a su través a un caudal de 2,4 a 4,5 toneladas al día (es decir, a una velocidad de flujo de 2 l/min).

10 En el reactor 12, se ajustó una velocidad de rotación del eje 19 a 10 rpm (es decir, 0,07 m/s como la velocidad periférica de la periferia 16c en la pala de control de paso 16). Como resultado, la temperatura real dentro del reactor 12 se controló con precisión a +2 °C con respecto a la temperatura prescrita ajustada al reactor 12 en el rango de temperatura donde tuvo lugar una reacción hidrotérmica a 160 °C o más. Además, se estabilizó la presión dentro del reactor 12 a 2,0 MPa que estaba por encima de la presión de vapor.

15 Se calculó un parámetro de severidad de la suspensión descargada desde el tanque de descarga de material 23 dispuesto aguas abajo del reactor 12 basándose en la temperatura y el caudal (o tiempo) dentro del reactor 12 en funcionamiento. A continuación, los rendimientos según los parámetros de severidad se representaron de manera similar a las curvas de rendimiento en la FIG. 5.

20 La FIG. 6 es un diagrama gráfico que muestra la comparación de rendimientos cuando un material de mazorca de maíz se somete a una reacción hidrotérmica en el reactor de la presente realización para producir curvas obtenidas con precisión en el reactor de tipo discontinuo. El símbolo \circ representa un rendimiento de xilano; el símbolo Δ representa un rendimiento del xilopolisacárido modificado; el símbolo ∇ representa un rendimiento de xilosa; y el símbolo \square representa un rendimiento de furfural, respectivamente. En el presente documento, los gráficos mostrados por líneas discontinuas en la FIG. 6 son iguales a las curvas de rendimiento mostradas por las líneas continuas en la FIG. 5.

30 Como se muestra en la FIG. 6, los rendimientos respectivos del xilopolisacárido modificado, xilosa y furfural obtenidos por el sistema colector 100 provisto con el reactor 12 de la presente realización fueron idénticos a las curvas de rendimiento obtenidas con precisión por el reactor de tipo discontinuo mostrado en la FIG. 5. Particularmente, esos rendimientos respectivos fueron precisamente idénticos a las curvas de rendimiento en la región con un parámetro de severidad que varía de aproximadamente 3000 a 7500.

35 Los resultados de la FIG. 6 demuestran que las condiciones de la reacción hidrotérmica están suficientemente controladas en el reactor de tipo continuo 12 que tiene una escala de 2000 ml/min (es decir, escala piloto), de manera similar al reactor de tipo discontinuo de 30 ml que puede controlar con precisión la reacción hidrotérmica. Específicamente, se asegura un rendimiento total del xilopolisacárido modificado y la xilosa, lo que sugiere que el calor utilizado para descomponer el xilano hidrolíticamente se realizó favorablemente. En concreto, se sugiere que el calor también se conduzca uniformemente en el reactor 12 de la presente realización, de manera similar al reactor de tipo discontinuo que controla con precisión una temperatura. Por lo tanto, se considera que se genera flujo pistón dentro del reactor 12.

45 Además, el rendimiento del xilopolisacárido modificado muestra la misma tendencia que la curva de rendimiento del reactor de tipo discontinuo, como indica una línea discontinua. El hallazgo anterior sugiere que la cantidad de la suspensión que pasa a través del reactor permanece sin reaccionar, la tasa de conversión a furfural y la cantidad de la suspensión que se retiene en el reactor 12 durante mucho tiempo son pequeñas. Esos hallazgos demuestran que el reactor 12 que genera un flujo pistón de la presente realización puede producir el xilopolisacárido modificado a gran escala, lo que ha sido difícil de lograr en la tecnología convencional.

50 <Investigación sobre la estructura del xilopolisacárido modificado producido por el Reactor 12>

A continuación, se analizó por HPLC y MALDI-TOF MS una estructura del xilopolisacárido modificado contenido en el filtrado (es decir, la fracción soluble) obtenida por el sistema colector 100 provisto con el reactor 12 de la presente realización.

60 Primero, una suspensión de la biomasa que contiene xilano se sometió a la reacción hidrotérmica bajo unas condiciones con un parámetro de severidad de 4600 por el reactor 12 mostrado en las FIGS. 3A y 3B. A continuación, la suspensión resultante así descargada desde el tanque de descarga de material 23 ubicado en la parte inferior del reactor 12 (es decir, la suspensión producida después de la reacción hidrotérmica) se sometió a separación centrífuga y filtración para eliminar el contenido de sólido insoluble, para así producir filtrado (fracción soluble). A continuación, el filtrado obtenido de este modo se sometió a ebullición durante 3 horas en presencia de ácido sulfúrico 1 M, y se neutralizó con una solución acuosa saturada de hidróxido de bario. Después de eliminar el sulfato de bario insoluble, los contenidos de monosacáridos y ácido urónico se analizaron respectivamente por HPLC con un detector RI.

65

Además, se analizaron de manera similar los contenidos de ácido acético y metanol, derivados respectivamente de grupos acetilo y metilo. A continuación, los contenidos del grupo acetilo y del grupo metilo se calcularon en base a los contenidos de ácido acético y metanol así analizados.

5 Además, se determinaron los contenidos de ácido ferúlico esterificado y ácido p-cumárico por HPLC con un detector UV después de que los ésteres de ácido se sometieran a una reacción de desesterificación a 65 °C durante 2 horas en condiciones alcalinas de solución acuosa de hidróxido de sodio 1 M, y se neutralizaron por ácido clorhídrico. A continuación, los contenidos de ácido ferúlico y ácido p-cumárico se calcularon en base a los contenidos del ácido ferúlico esterificado y el ácido p-cumárico así analizados, como se ha mencionado anteriormente.

10

Los resultados de los análisis se muestran en la Tabla 1.

[Tabla 1]

		contenido		grado de sustitución
		(mg/g)	(mmol/g)	
monosacáridos	xilosa	535	3561	-
	glucosa	121	672	-
	arabinosa	23	153	0,043
	manosa	19	104	-
	galactosa	18	98	-
sustituyentes	grupo acetilo	39	645	0,18
	grupo metilo	0	0	-
	grupo feruloilo	14	73	0,02
	grupo p-coumaroilo	4	26	0,0072

15 Como se muestra en la Tabla 1, se detectó xilosa como componente principal. La detección de xilosa fue generada por la hidrólisis ácida del xilopolisacárido modificado que era soluble y se produjo a través de la reacción hidrotérmica de xilano. La hidrólisis ácida del xilopolisacárido modificado produjo xilosa monomérica incluida en el xilopolisacárido modificado. Además, los monosacáridos así detectados contenían glucosa, arabinosa, manosa y galactosa.

20

Además, se detectaron un grupo acetilo, un grupo feruloilo y un grupo p-coumaroilo. Esos resultados dan lugar al hallazgo de que los sustituyentes anteriores que han sido detectados solo por una reacción hidrotérmica a pequeña escala están bien conservados en la reacción hidrotérmica a escala piloto realizada por el reactor 12.

25 Además, se calculó el grado de sustitución representado por una relación molar calculada en base al contenido del grupo acetilo frente al contenido de xilosa. Como resultado, el grado de sustitución se calculó como 0,18. El resultado indica que 1 molécula de xilosa está sustituida con 0,18 restos (aproximadamente 2 restos) de los grupos acetilo. Por lo tanto, se demuestra que existe un grupo acetilo por xilopiranososa que tiene cinco cadenas lineales.

30 De manera similar, también se calcularon los grados de sustitución representados por las relaciones molares calculadas en base al contenido del grupo arabinosa, el grupo feruloilo y el grupo p-coumaroilo, respectivamente, contra el contenido de xilosa. En consecuencia, los grados de sustitución se calcularon como 0,043, 0,02 y 0,0072, respectivamente. Los resultados indican que un grupo feruloilarabinofuranosilo y un grupo cumaroilarabinofuranosilo, que existen solo en xilano derivado de las paredes celulares de las plantas, también se conservan en el xilopolisacárido modificado así obtenido por el reactor 12.

35

<Investigación de productos cuando el xilopolisacárido modificado obtenido por el reactor 12 se somete a reacción enzimática>

40 Se recogió el filtrado (130 ml; fracción soluble) utilizado para obtener los resultados en la Tabla 1. A continuación, se añadió lentamente etanol al filtrado recogido mientras se agitaba lentamente hasta que la concentración de etanol alcanzó el 80 % en volumen. Después de permanecer durante la noche a 4 °C, los precipitados se recogieron por filtro de vidrio. A continuación, los precipitados recogidos se lavaron con etanol y acetona dos veces respectivamente, y los productos resultantes se secaron al vacío durante 4 días.

45

Se obtuvieron aproximadamente 3 g del xilopolisacárido modificado de un sólido así sometido al secado al vacío. Téngase en cuenta que el xilopolisacárido modificado resultante se obtuvo por el reactor 12 de la presente realización. A continuación, el xilopolisacárido modificado se disolvió en agua con intercambio iónico con un valor de pH de 5 a 6 para preparar una solución acuosa de xilopolisacárido modificado (1 % en masa). La solución acuosa así preparada se sometió a una prueba de reacción enzimática y un análisis MALDI-TOF MS.

50

Las enzimas utilizadas para la prueba de reacción enzimática se obtienen de *Streptomyces olivaceoviridis*. En el presente documento, las enzimas así utilizadas son de 3 tipos que consisten en β -xilosidasa purificada, y 2 tipos de endo- β -1,4-xilanasas purificadas. La β -xilosidasa purificada se clasifica en GH43 de una glucósido hidrolasa (GH)

registrada en la base de datos de enzimas relacionadas con carbohidratos (CAZ). Los 2 tipos de endo- β -1,4-xilanasa purificada se clasifican en GH10 y GH 11 registradas en la base de datos descrita anteriormente. Esas enzimas se purifican para que el contenido de esterasa sea extremadamente limitado.

5 A continuación, los 3 tipos de enzimas se añadieron a la solución acuosa de xilopolisacárido modificado (1 % en masa) respectivamente, de modo que cada proporción (es decir, proporción en volumen) de las enzimas pasó a ser de 1 por 40 de la solución acuosa así preparada. A continuación, las soluciones resultantes se sometieron a reacciones enzimáticas a 37 °C durante 15 h, respectivamente. Una vez completadas las reacciones respectivas, cada solución se sometió al tratamiento de desactivación térmica a 100 °C durante 5,0 minutos, y la solución de prueba resultante se analizó mediante MALDI-TOF MS.

10 En el análisis de los espectros de MS, se detectaron picos correspondientes a los xilopolisacáridos modificados que fueron modificados por grupos mono, di, tri y tetraacetilo (es decir, Ac1-Ac4) con un grado de polimerización de 4 a 12 o más, con respecto al xilopolisacárido modificado que era un sustrato antes de someterlo a la reacción enzimática (FAXy13).

15 La FIG. 7 muestra los resultados analíticos de MALDI-TOF MS de la relación entre el grado de polimerización y el número de grupos acetilo del xilopolisacárido modificado producidos por el reactor 12 de la presente realización. La relación entre el grado de polimerización y el número de grupos acetilo del xilopolisacárido modificado se aproximó por la ecuación experimental: $Y = 0,17 X$ (es decir, X representaba un grado de polimerización, Y representaba el número de grupos acetilo, y esas definiciones eran las mismas que en las FIGS. 8-10 como se menciona más adelante).

20 El coeficiente de 0,17 que se muestra en la ecuación experimental representa un grado de sustitución del grupo acetilo por xilosa monomérica. En el presente documento, el valor era casi idéntico al grado de sustitución de 0,18 obtenido en el análisis de sacárido de HPLC en la Tabla 1. Los datos indican que se obtuvieron los mismos resultados cuando se evaluaron los grados de sustitución del grupo acetilo incluso por métodos completamente diferentes.

25 El resultado muestra que cuando la reacción hidrotérmica es realizada por el reactor 12 de la presente realización, los grupos acetilo que son sustituyentes presentes en el xilano derivado de las paredes celulares de las plantas están bien conservados.

30 La FIG. 8 muestra los resultados analíticos de MALDI-TOF MS de la relación entre el grado de polimerización y el número de grupos acetilo del xilooligosacárido modificado producido mediante la aplicación de β -xilosidasa (GH43) al xilopolisacárido modificado producido por el reactor 12 de la presente realización. La relación entre el grado de polimerización y el número de grupos acetilo del xilooligosacárido modificado se aproximó mediante la ecuación experimental: $Y = 0,38X$.

35 En el presente documento, la β -xilosidasa tiene una función para cortar una cadena de xilosacáridos que no tiene grupos acetilo del lado terminal no reductor de xilano, por lo que es probable que la cadena de xilooligosacárido no acetilada se recoja completamente. Por otro lado, se supone que el grado de sustitución de los grupos acetilo del xilooligosacárido modificado restante es de 0,38, que es una pendiente de la ecuación experimental aproximada. En consecuencia, el grado de sustitución fue mayor que el número de grupos acetilo (0,18) del xilopolisacárido modificado original que se muestra en la FIG. 7.

40 En el presente documento, debe apreciarse que la reacción enzimática de la β -xilosidasa es inhibida por la modificación de los grupos acetilo, etc., y por lo tanto la β -xilosidasa no puede cortar un enlace glucósido del xilopolisacárido modificado. Por lo tanto, esta inhibición de la reacción puede usarse para prevenir la escisión del enlace glucósido, permitiendo que se recoja un xilooligosacárido muy acetilado.

45 Además, se supone que un aumento en el xilooligosacárido modificado con un mayor grado de polimerización que el xilopolisacárido modificado original resulta de la presencia de un xilopolisacárido modificado acetilado macromolecular con un grado de polimerización de 12 o más y que no es detectado por MS, en el sustrato (es decir, xilopolisacárido modificado antes de someterlo a la reacción enzimática). Es decir, dicho xilopolisacárido modificado acetilado macromolecular se descompone hidrolíticamente en moléculas bajas por la reacción enzimática. Por lo tanto, se supone que esta descomposición hidrolítica aumenta la concentración del xilooligosacárido acetilado así detectado.

50 La FIG. 9 muestra los resultados analíticos de MALDI-TOF MS de la relación entre el grado de polimerización y el número de grupos acetilo del xilopolisacárido modificado producido mediante la aplicación de β -1,4-xilanasa (GH10) al xilopolisacárido modificado producido por el reactor 12 de la presente realización.

55 Además, la FIG. 10 muestra los resultados analíticos de MALDI-TOF MS de la relación entre el grado de polimerización y el número de grupos acetilo del xilooligosacárido modificado producido mediante la aplicación de β -1,4-xilanasa (GH11) al xilopolisacárido modificado.

Como se muestra en las FIGS. 9 y 10, el número de grupos acetilo del xilooligosacárido modificado aumentó cuando se usó cualquiera de las enzimas. Más específicamente, cuando se usó β -xilosidasa (GH10) (véase FIG. 9), el número de grupos acetilo (es decir, una pendiente aproximada de la ecuación) fue de 0,72. Cuando se usó la β -xilosidasa (GH11) (véase FIG. 10), el número de grupos acetilo (es decir, una pendiente aproximada de la ecuación) fue de 0,50. Se supone que cuando se usa la β -xilosidasa (GH10) entre esas enzimas, la β -xilosidasa (GH10) tiene una alta actividad en el área no acetilada, mientras que la reacción es inhibida en gran medida por el residuo de acetilo. Por lo tanto, cuando se compara con esta última (es decir, β -xilosidasa (GH11)), se puede recoger el xilooligosacárido modificado que tiene un bajo grado de polimerización y gran cantidad de grupos acetilo.

Por el contrario, el xilopolisacárido modificado obtenido por el reactor 12 de la presente realización se sometió a la descomposición enzimática a través de β -xilosidasa (GH10) y β -xilosidasa (GH11). Las soluciones así obtenidas fueron analizadas por MAIDI-TOF MS. La Tabla 2 resume los resultados. La Tabla 2 enumera los tipos de xilooligosacáridos modificados obtenidos por las reacciones enzimáticas, y sus valores de m/z.

Tabla 2

Enzimas aplicadas			m/z ([M+Na] ⁺)
Xilosidasas	Xilanasas (GH10)	Xilanasas (GH11)	
FAXyl2	FAXYL2	-	614
-	FAXyl2Ac1	-	656
-	FAXyl2Ac2	-	698
FAXyl3	FAXyl3	FAXyl3	745
FAXyl3Ac1	FAXyl3Ac1	FAXyl3Ac1	788
-	FAXyl3Ac2	FAXyl3Ac2	830
FAXyl4	FAXyl4	FAXyl4	878
-	FAXyl4Ac1	FAXyl4Ac1	920
-	FAXyl4Ac2	FAXyl4Ac2	962
-	FAXyl4Ac3	-	1004
FAXyl5	FAXyl5	FAXyl5	1010
FAXyl5Ac1	FAXyl5Ac1	FAXyl5Ac1	1052
-	FAXyl5Ac2	-	1094
-	FAXyl6	FAXyl6	1142
-	-	FAXyl6Ac1	1184
-	-	FAXyl6Ac2	1226
-	-	FAXyl7Ac1	1316
-	CAXyl2	-	583
-	CAXyl2Ac1	-	626
-	CAXyl3	CAXyl3	716
-	CAXyl3Ac1	CAXyl3Ac1	758
-	CAXyl4	CAXyl4	848
-	-	CAXyl4Ac1	890

En la Tabla 2, "FA" representa un grupo funcional de "feruloil- α -L-arabinofuranosilo". "CA" representa "p-coumaroil- α -L-arabinofuranosilo". Además, el número que sigue a "Xyl" representa el número de xilasos. Por ejemplo, "FAXyl3" representa "feruloil- α -arabinofuranosil-xilotriosa". Además, "Ac" representa un grupo acetilo, y el número que sigue a "Ac" representa el número de grupos acetilo. Por lo tanto, "FAXyl3Ac1" representa "feruloil- α -L-arabinofuranosil-monoacetil-xilotriosa".

Además, todos los FAXyl1, FAXyl2, FAXyl3, FAXyl4, FAXyl5, CAXyl1, FAXyl12, FAXyl13 y FAXyl14 son un tipo de xilopolisacáridos modificados. Esta definición es similar a otros sacáridos.

Los resultados analíticos de MALDI-TOF MS demostraron la detección de feruloil- α -L-arabinofuranosil-xilooligosacárido (FA-xilooligosacárido); y monoacetil-FA-xilooligosacárido, diacetil-FA-xilooligosacárido y triacetil-FA-xilooligosacárido, todos los cuales se obtuvieron de FA-xilooligosacárido unido con 1-3 grupos acetilo. Como se ha mencionado anteriormente, se recogieron varios tipos de componentes de oligosacáridos derivados de FA-xilopolisacáridos con un grado de polimerización de 2 a 7, a los que se unieron 1 a 3 grupos acetilo.

Específicamente, se recogieron FAXyl2Ac1, FAXyl2Ac2, FAXyl2Ac3, FAXyl3Ac1, FAXyl3Ac2, FAXyl3Ac3, FAXyl4Ac1, FAXyl4Ac2, FAXyl4Ac3, FAXyl5Ac1, FAXyl5Ac2, FAXyl5Ac3, FAXyl6Ac1, FAXyl6Ac2, FAXyl6Ac3, FAXyl7Ac1, FAXyl7Ac2, y FAXyl7Ac3.

Además, de manera similar a lo anterior, los resultados analíticos de MALDI-TOF MS demostraron que también se detectaron los picos de p-coumaroil- α -L-arabinofuranosil-xilooligosacárido (CA-xilooligosacárido) y monoacetil-CA-xilooligosacárido. Específicamente, se detectaron CAXyl2, CAXyl3, CAXyl4, CAXyl2Ac1, CAXyl3Ac1 y CAXyl4Ac1. Por consiguiente, se determina que las reacciones enzimáticas (es decir, con β -xilosidasa y xilanasas) aplicadas a los

xilopolisacáridos modificados así obtenidos por el reactor 12 de la presente realización permiten la producción de xilooligosacáridos modificados con altos grados de modificación.

5 En el presente documento, las reacciones enzimáticas pueden preservar los sustituyentes en las cadenas laterales de xilano derivadas de la pared celular de la planta. Además, aunque no se muestra en las Figuras, se supone que el monosacárido xilosa también se produce a medida que avanzan las reacciones enzimáticas, además de los xilooligosacáridos modificados anteriores.

10 Específicamente, por ejemplo, los xilooligosacáridos muy acetilados (es decir, mono-, di-, tri-, tetra- y penta-acetil-xilooligosacáridos), y el monosacárido xilosa se pueden recoger en un tiempo de reacción corto. Además, por ejemplo, aparte de los xilooligosacáridos muy acetilados, así como FA-xilooligosacáridos y CA-xilooligosacáridos, también se puede recoger xilooligosacáridos modificados tales como mono-, di- o tri-acetil-FA-XOS y mono-, di- o tri-acetil CA-XOS.

15 Como se ha mencionado en el presente documento anteriormente, el uso del reactor 12 que genera flujo pistón y el control del parámetro de severidad pueden producir los xilopolisacáridos modificados conservando los sustituyentes en sus cadenas laterales. Los xilopolisacáridos modificados así obtenidos se someten fácilmente a la reacción enzimática ya que se han solubilizado.

20 Por lo tanto, cuando se usa una pequeña cantidad de la enzima purificada para esos xilopolisacáridos modificados, la reacción enzimática avanza rápidamente, permitiendo grandes cantidades y bajos costes de producción de los xilooligosacáridos modificados con un alto grado de modificación y usabilidad como FAXyl2Ac1.

<Sumario>

25 Como se ha mencionado en el presente documento anteriormente, los xilopolisacáridos modificados así obtenidos por el reactor 12 eran polisacáridos que van desde oligosacáridos con un grado de polimerización de aproximadamente 2-12 a polímeros con un grado de polimerización de 20 o más. Además, se recogieron grandes cantidades de xilopolisacáridos modificados mientras se conservaban los sustituyentes tales como un grupo acetilo, un grupo feruloil- α -L-arabinofuranosilo (FA) y un grupo p-cumaroil- α -L-arabinofuranosilo (CA) de los cuales originalmente estaban incluidas grandes cantidades en las paredes celulares de las plantas.

30 Mientras tanto, aunque se han omitido explicaciones detalladas, cuando el xilopolisacárido modificado así producido por la reacción hidrotérmica se hace reaccionar con β -xilosidasa o endo- β -1,4-xilanasas, la velocidad de reacción resultante se vuelve aproximadamente 24 veces a 48 veces mayor que la de la reacción en la que la biomasa que contiene xilano se somete a la reacción enzimática después de someterse a un pretratamiento alcalino o un pretratamiento digestivo.

40 Además, el método convencional para realizar un tratamiento alcalino a biomasa o realizar un tratamiento enzimático que contiene esterasa permite que se eliminen por completo sustituyentes tales como un grupo acetilo. Así, en el método convencional, la descomposición hidrolítica procede para producir un homo-xilooligosacárido de bajo peso molecular y no modificado. Esto dificulta la producción de un hetero-xilooligosacárido modificado.

45 Además, cuando el parámetro de severidad es bajo, la descomposición hidrolítica apenas continúa, lo que resulta en una disminución en el rendimiento del xilopolisacárido modificado. Por el contrario, cuando el parámetro de severidad es alto, no solo disminuye el rendimiento del xilopolisacárido modificado, sino que también los sustituyentes tienden a eliminarse fácilmente, lo que da como resultado una disminución en los sustituyentes del xilopolisacárido modificado.

50 En concreto, existe una relación entre el parámetro de severidad que afecta al material de biomasa que contiene xilano durante la reacción hidrotérmica y la cantidad de sustituyentes restantes.

55 Por lo tanto, el reactor 12 que genera flujo pistón se usa en la presente realización para proporcionar un parámetro de severidad uniforme y deseable con todas las materias primas. Por lo tanto, el análisis del perfil de preservación de los sustituyentes del xilopolisacárido modificado permite una estimación precisa del historial de reacción sobre qué grado de reacción hidrotérmica se realizó.

60 Además, si la suspensión así obtenida por el reactor 12 de la presente realización se purifica por separación de membrana, tratamientos con carbón activo e intercambio iónico y posteriormente se concentra, y se somete a secado por pulverización y liofilización, se obtiene un polvo blanco que contiene el xilopolisacárido modificado. En el presente documento, los sustituyentes se conservan en las cadenas laterales del xilopolisacárido modificado. Por lo tanto, a pesar de que el xilopolisacárido modificado es un polímero, su solubilidad en agua pasa a ser alta.

65 Además, el xilopolisacárido modificado es un sacárido estable que tiene un dulzor delicado derivado de un xilopolisacárido de bajo peso molecular, así como un tacto suave y agradable en la lengua, como el azúcar.

Un esqueleto básico del xilopolisacárido modificado se construye mediante un enlace β -1,4 de hemicelulosa. Por lo tanto, el xilopolisacárido modificado se considera como fibra dietética que tiene solubilidad en agua, lo que proporciona una funcionalidad de fibra dietética que es difícil de tomar en el presente estilo de vida de la dieta actual. Además, los xilopolisacáridos modificados solubles en agua que preservan las cadenas laterales se hidrolizan con dificultad en el ambiente de pH dentro de los órganos digestivos. Finalmente, la mayoría de los xilopolisacáridos modificados llegan al intestino en forma intacta.

5 Esas características permiten que una parte de los xilopolisacáridos modificados que han alcanzado los intestinos sean utilizados por microorganismos para producir ácidos orgánicos útiles como el ácido acético, el ácido ferúlico y el ácido cumárico. En consecuencia, se espera que los xilopolisacáridos modificados se utilicen para un excelente material prebiótico.

Descripción de números de referencia

- 15 11 Tubería
12 Reactor
16 Pala de control de paso (es decir, mecanismo de control de paso)
16a Miembro de placa (es decir, mecanismo de control de paso)
16b Parte hueca (u orificio pasante; es decir, mecanismo de control de paso)
20 16c Parte periférica (es decir, mecanismo de control de paso)
18 Soporte (es decir, miembro de placa, mecanismo de control de paso)
19 Eje (es decir, Rotor)
20a Miembro de raspado (es decir, mecanismo de control de paso)
20b Miembro de presión (es decir, mecanismo de control de paso)
25 20c Perno (es decir, mecanismo de control de paso)
100 Sistema de reacción

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir un xilopolisacárido modificado, el método que comprende las etapas de:

5 preparar la biomasa como materia prima que comprende xilano en sus paredes celulares de las plantas, en donde el xilano comprende al menos uno de los sustituyentes seleccionados de un grupo acetilo, un grupo feruloilarabinofuranosilo y un grupo cumaroilarabinofuranosilo en una de sus cadenas laterales;
 10 realizar un tratamiento hidrotérmico continuo en una suspensión que contiene la biomasa del 10 % en masa al 30 % en masa como contenido sólido mediante el uso de un reactor cilíndrico de flujo pistón que incluye un mecanismo de control de paso dentro del reactor, bajo condiciones controladas: a una temperatura de 160 °C o más, a una presión igual o superior a una presión de vapor de agua saturada a dicha temperatura, y con un parámetro de severidad R_o que varía de 3000 a 7000 calculado por la siguiente ecuación (1),

$$R_o = \int_0^t \exp \left(\frac{T(t) - T_r}{\omega} \right) dt$$

15 -----Ecuación (1)

en la que T(t) representa una variación en el tiempo de una temperatura (°C), T_r representa una temperatura estándar (100 °C), t representa un tiempo (min) y ω representa una constante (= 14,75); y produciendo un xilopolisacárido modificado que conserva los sustituyentes en la cadena lateral del xilano.

20 2. El método para producir un xilopolisacárido modificado descrito en la reivindicación 1, el mecanismo de control del paso que comprende:

25 un rotor en columna que puede girar alrededor de un eje central dispuesto en una dirección paralela al flujo de la suspensión;
 una pluralidad de palas de control de paso que consisten en un miembro de placa que está dispuesto en una superficie lateral del rotor, dirigido hacia el exterior del rotor y extendido en una dirección del flujo de la suspensión.

30 3. El método para producir un xilopolisacárido modificado descrito en la reivindicación 2, en el que una parte de la pala de control de paso orientada hacia una pared interna del reactor de flujo pistón tiene una distancia de 5 mm o menos con respecto a la pared interna.

35 4. El método para producir un xilopolisacárido modificado descrito en la reivindicación 2 o la reivindicación 3, en el que el rotor se gira de modo que la velocidad periférica de una periferia del miembro de placa esté en el intervalo de 0,02 m/s a 0,3 m/s.

40 5. El método para producir un xilopolisacárido modificado descrito en la reivindicación 2, en el que se forma un orificio pasante en el miembro de placa de modo que la suspensión pasa a través del mismo en una dirección periférica del rotor.

6. El método para producir un xilopolisacárido modificado descrito en la reivindicación 2, en el que

45 se dispone un miembro de raspado giratorio alrededor de un eje central en una periferia del miembro de placa, y el miembro de raspado se pone en contacto con una pared interna del reactor de flujo pistón a medida que se gira el rotor.

7. El método para producir un xilopolisacárido modificado descrito en la reivindicación 1, que comprende además las etapas de:

50 hacer que al menos la β -xilosidasa o la xilanasas reaccione con un xilopolisacárido modificado así obtenido en el reactor de flujo pistón; y
 producir un xilooligosacárido modificado que conserva sustituyentes en una cadena lateral del xilopolisacárido modificado.

55

FIG. 2

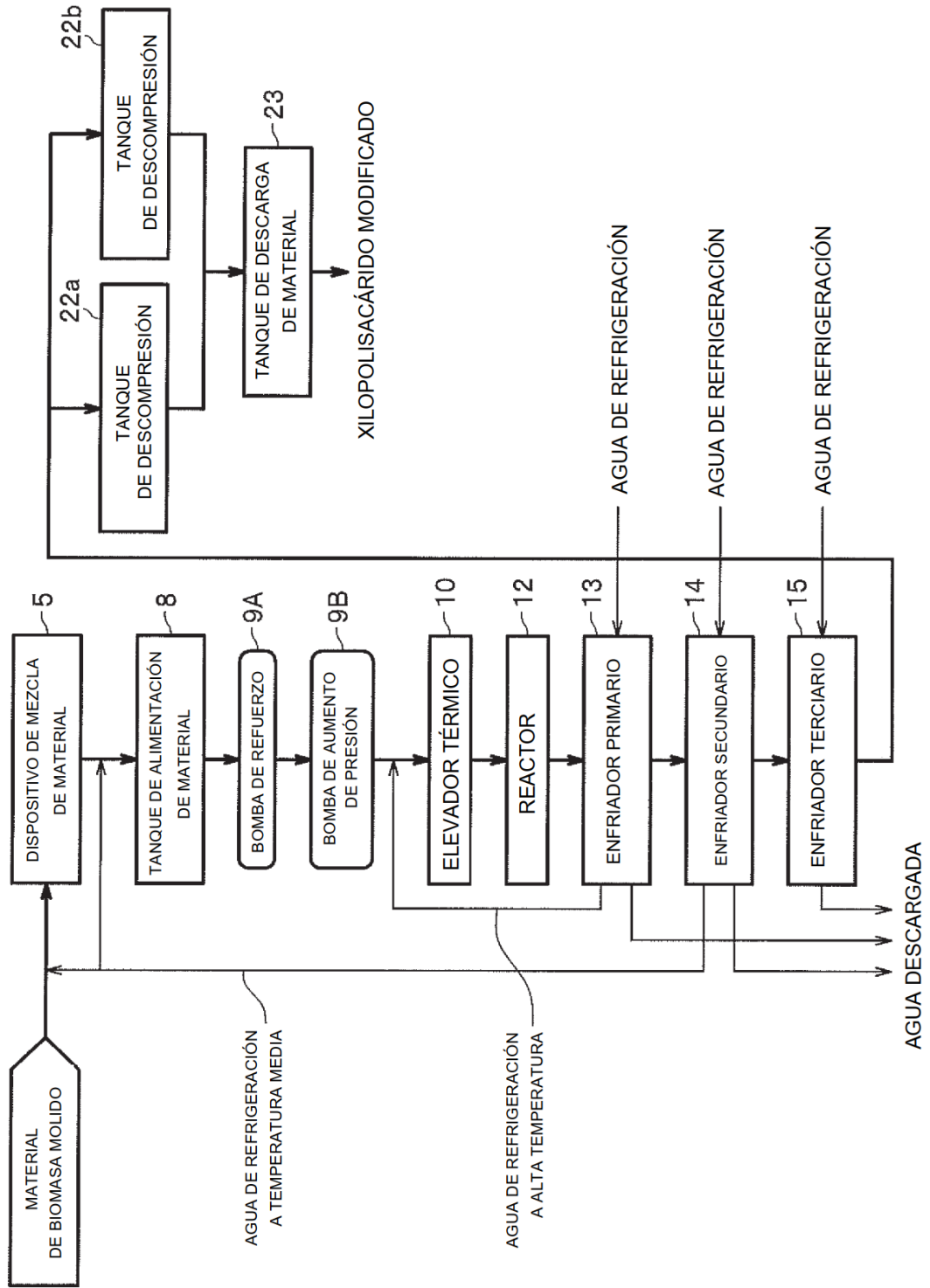


FIG. 3A

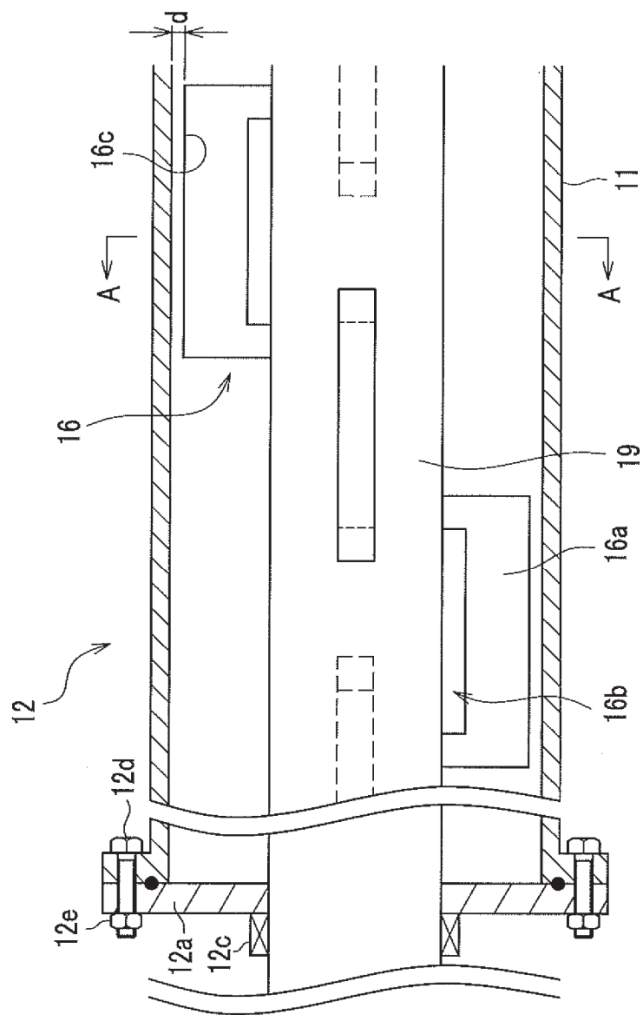


FIG. 3B

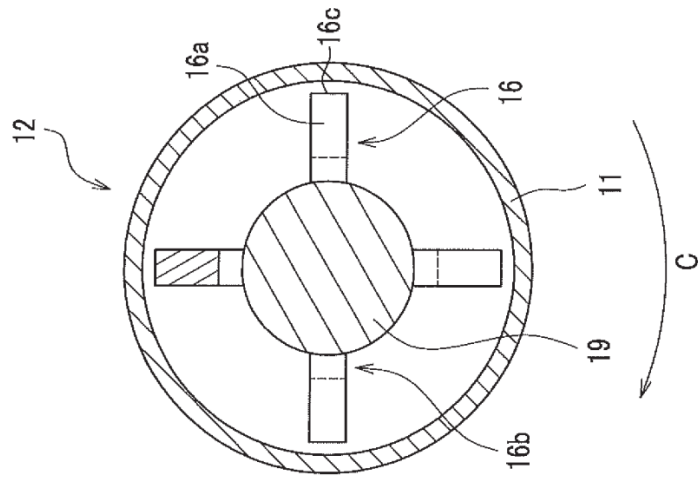


FIG. 4B

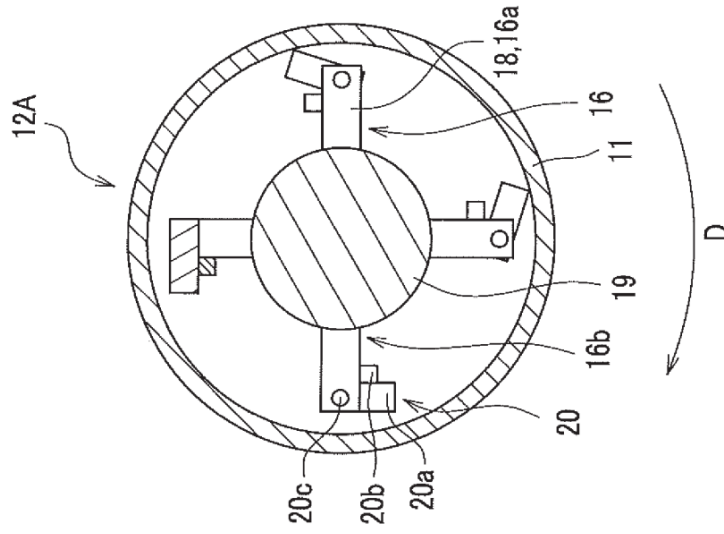


FIG. 4A

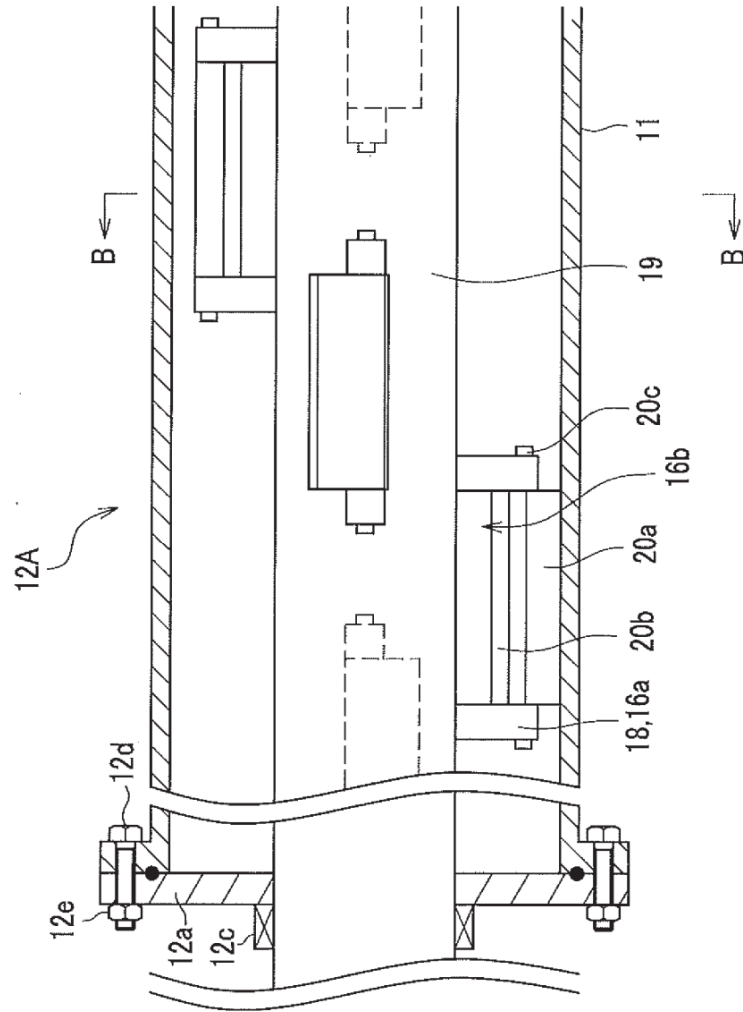


FIG. 5

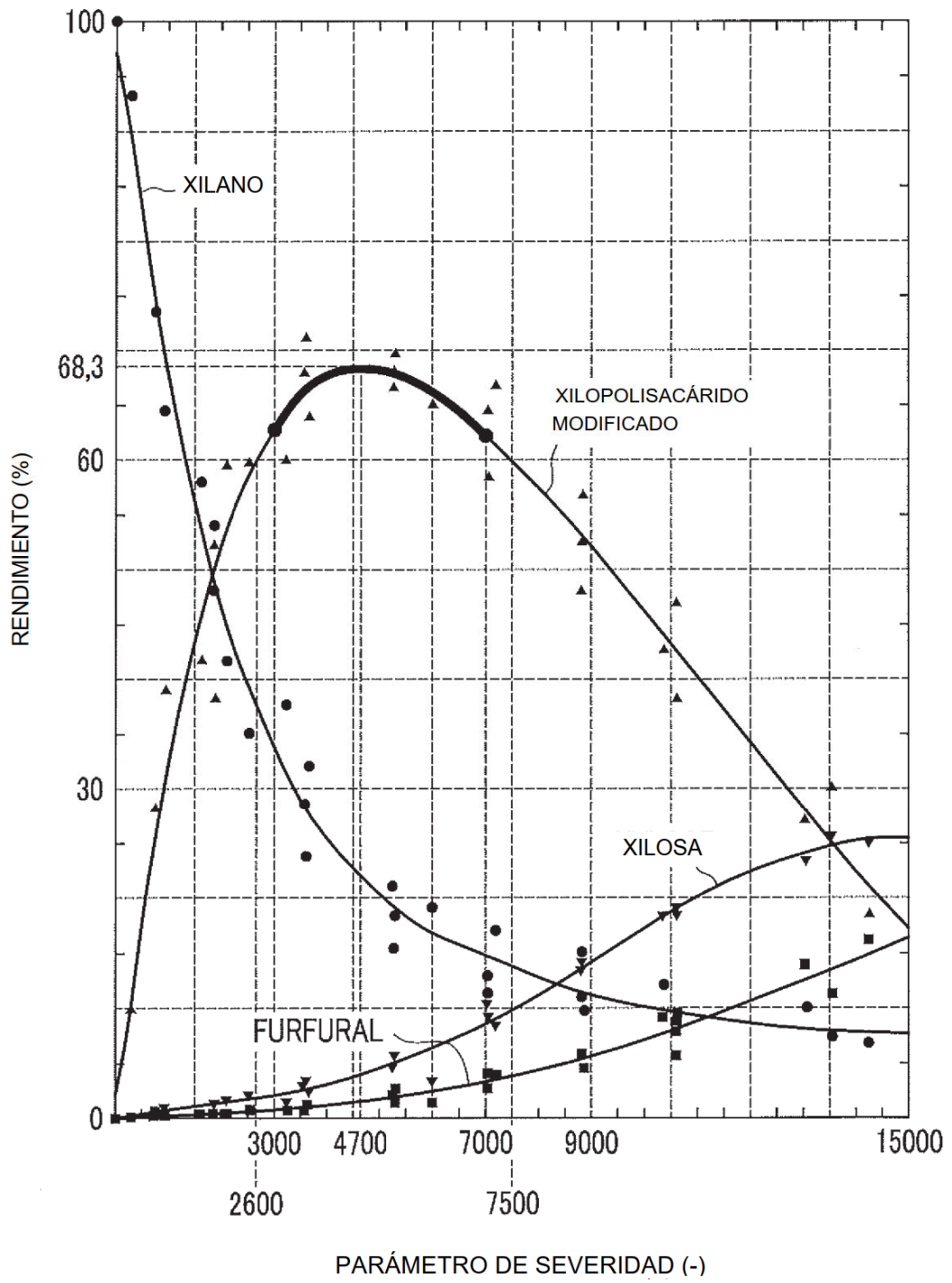


FIG. 6

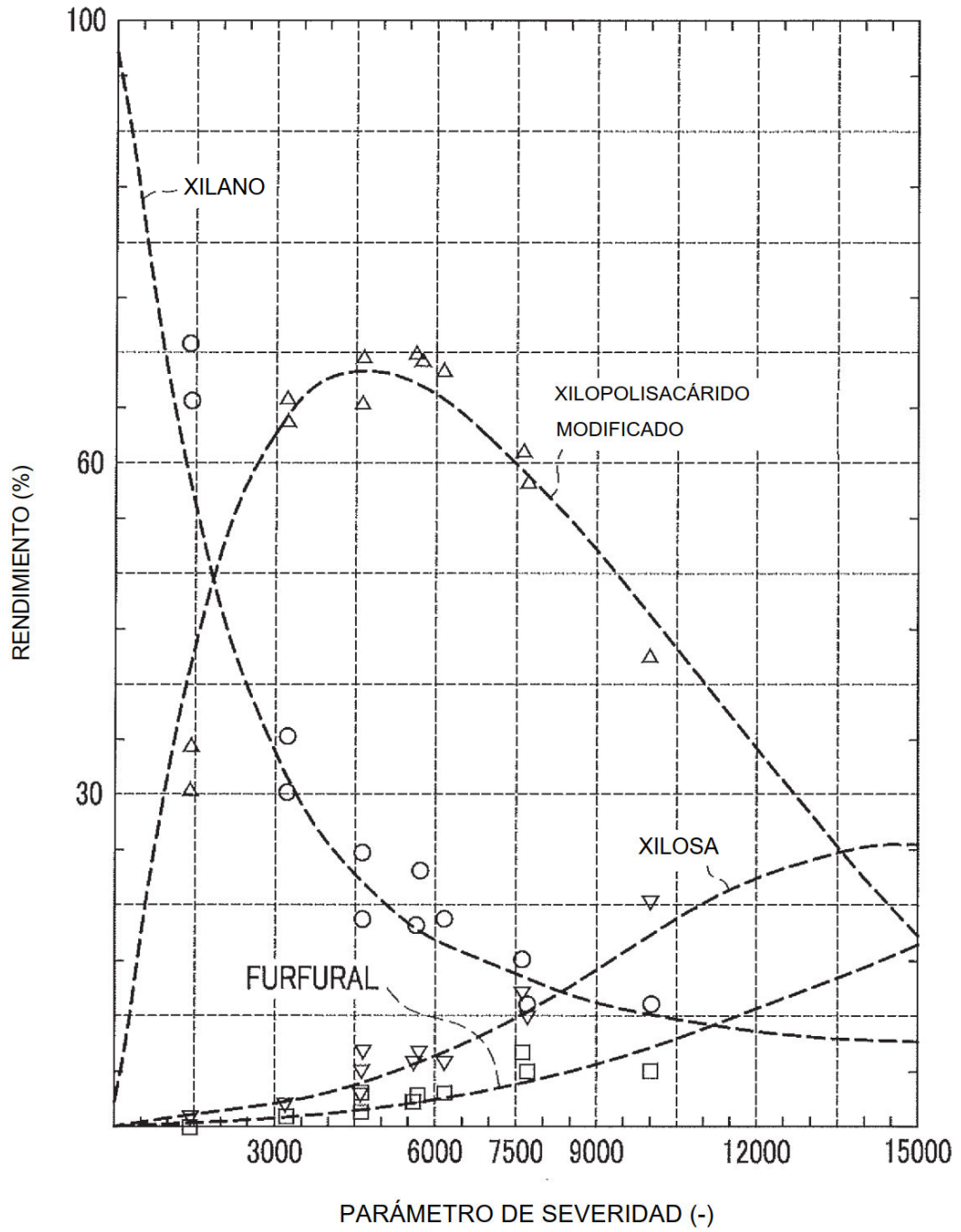


FIG. 7

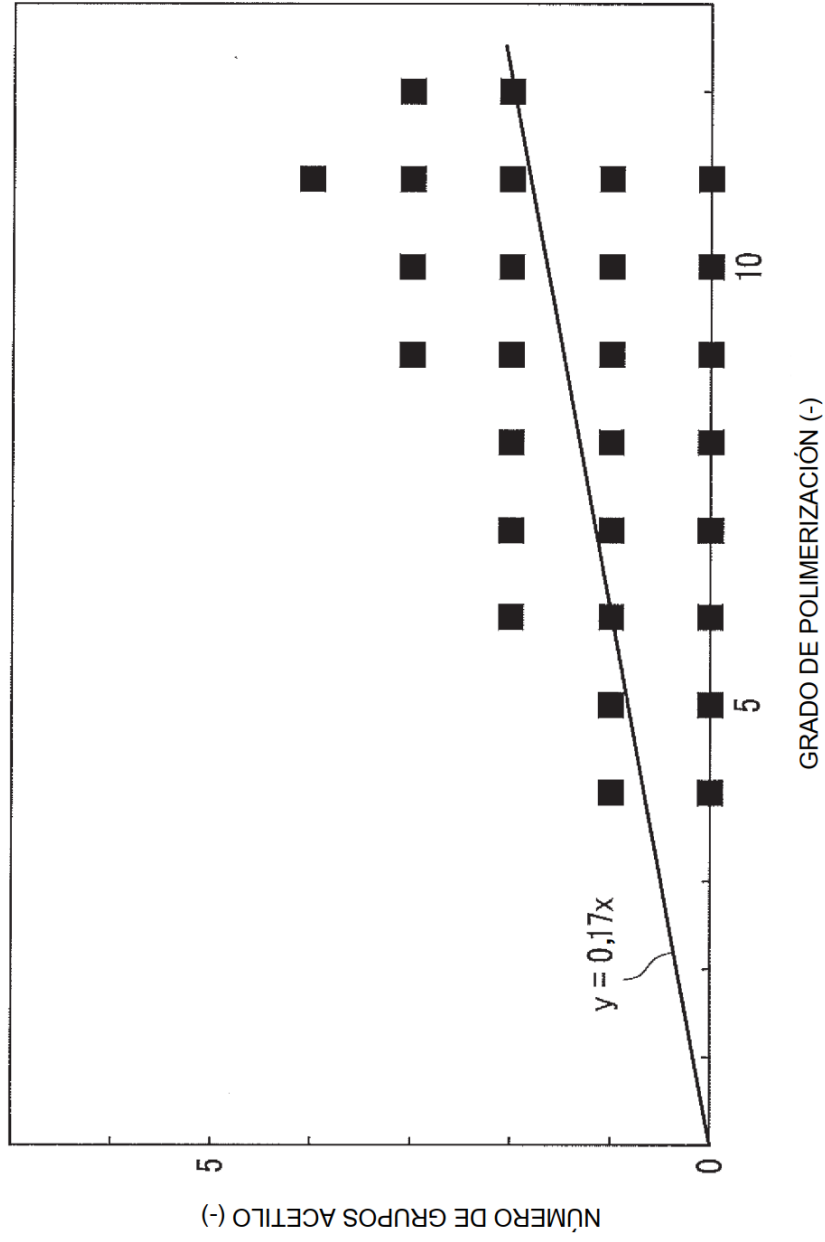


FIG. 8

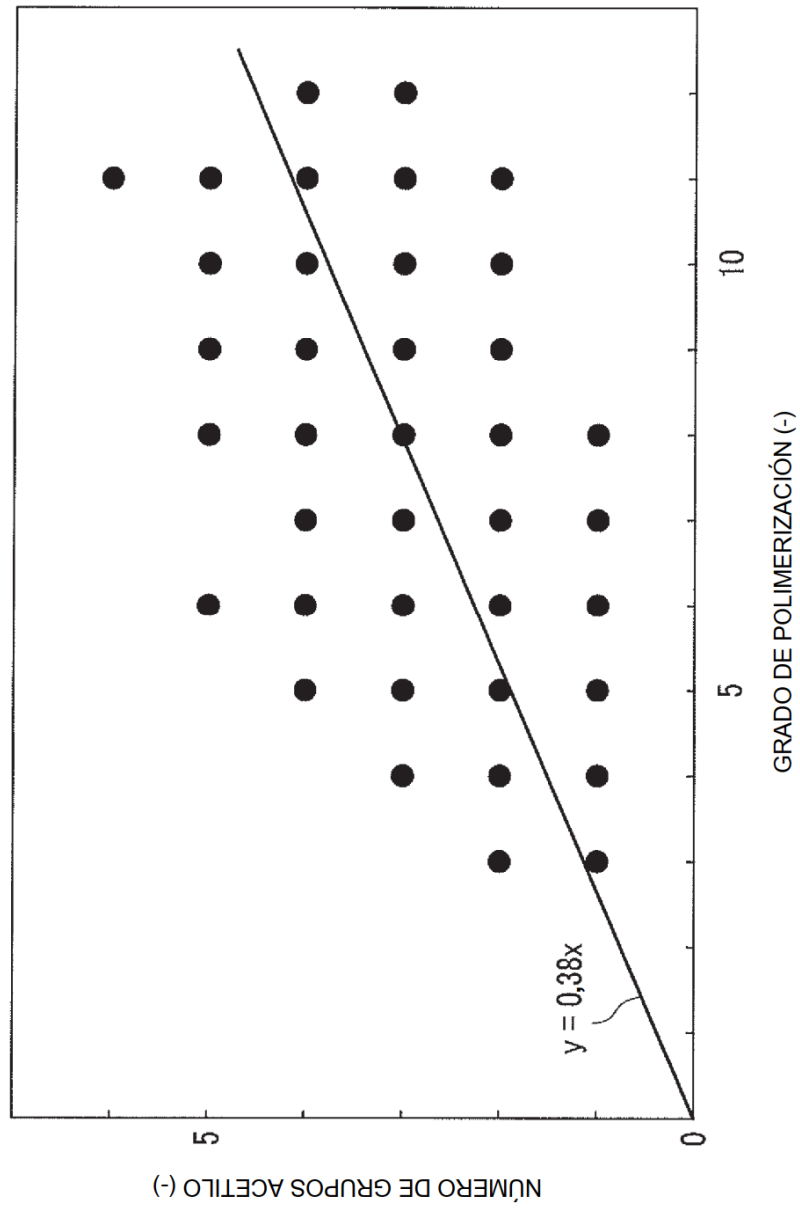


FIG. 9

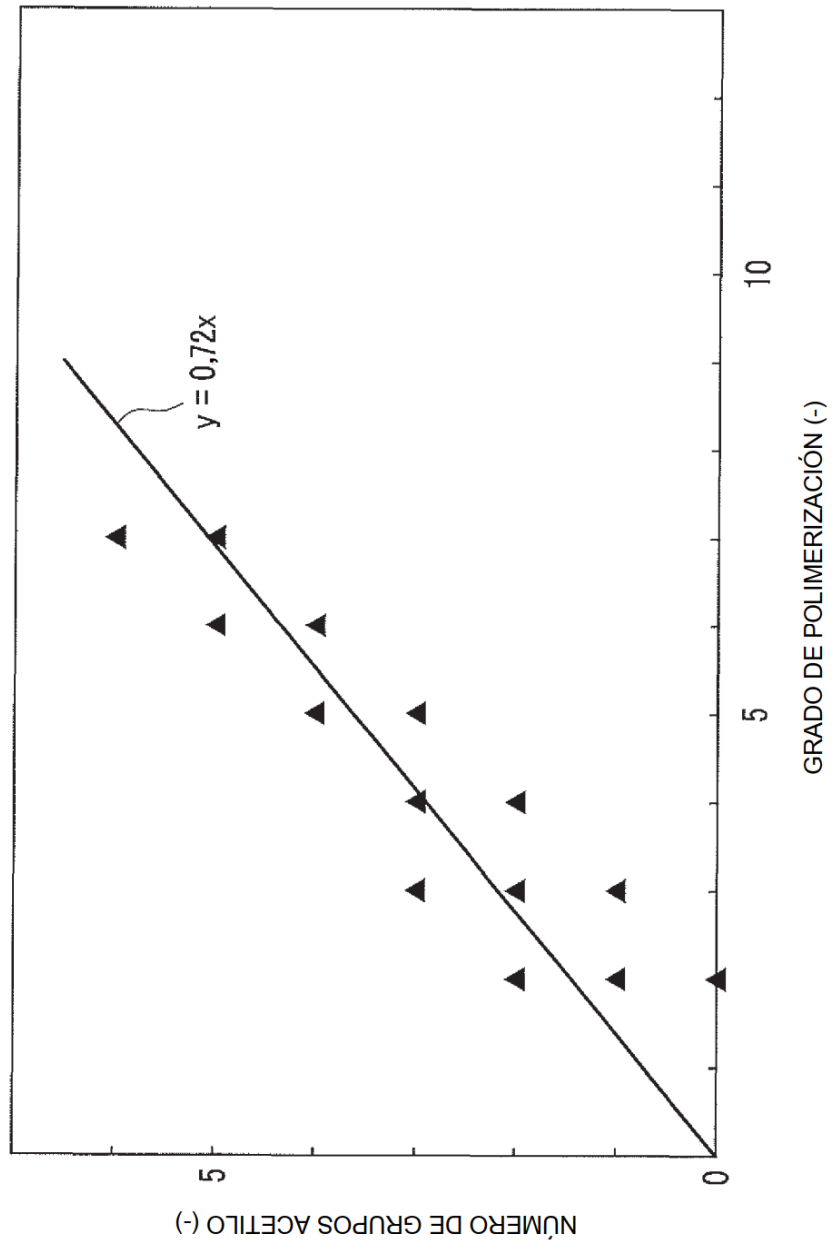


FIG. 10

