



República Federativa do Brasil  
Ministério da Indústria, Comércio Exterior  
e Serviços  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) PI 0509034-2 B1**



**(22) Data do Depósito: 21/03/2005**

**(45) Data de Concessão: 06/11/2018**

**(54) Título:** PROCESSO PARA EXTRAIR ESTERÓIS A PARTIR DE FIBRA DE MILHO

**(51) Int.Cl.:** A61K 31/56; A61K 31/575; A61K 36/899.

**(30) Prioridade Unionista:** 22/03/2004 US 60/555,284.

**(73) Titular(es):** ARCHER-DANIELS-MIDLAND COMPANY.

**(72) Inventor(es):** CHARLES ABBAS; KYLE E. BEERY; THOMAS P. BINDER; ANNE M. RAMMELSBURG.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2005009271 de 21/03/2005

**(87) Publicação PCT:** WO 2005/092021 de 06/10/2005

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 21/09/2006

**(57) Resumo:** EXTRAÇÃO COM ETANOL, DE FITOESTERÓIS A PARTIR DE FIBRA DE MILHO. A presente invenção provê um processo para extrair esteróis de uma fibra de milho termoquimicamente hidrolisada, com elevado teor de sólidos utilizando etanol como o agente de extração. O processo inclui obter uma pasta de fibra de milho tendo um teor de umidade de aproximadamente 20 por cento em peso até aproximadamente 50 por cento em peso de sólidos (elevado teor de sólidos), processar termoquimicamente a pasta de fibra de milho tendo elevado teor de sólidos de 20 a 50% para produzir uma pasta de fibra de milho hidrolisada, desidratar a pasta de fibra de milho hidrolisada para obter uma fibra de milho residual tendo um teor de umidade de aproximadamente 30 a 80 por cento em peso de sólidos, lavar a fibra de milho residual, desidratar a pasta de fibra de milho hidrolisada, lavada para obter uma fibra de milho residual tendo um teor de umidade de aproximadamente 30 a 80 por cento em peso de sólidos, e extrair a fibra de milho residual com etanol e separar pelo menos um esterol.

“PROCESSO PARA EXTRAIR ESTERÓIS A PARTIR DE FIBRA DE MILHO”

Referência remissiva a pedidos correlatos

[001]Esse pedido é não provisório de e reivindica o benefício de prioridade do Pedido de patente provisória US número de série 60/555.284, depositado em 22 de março de 2004, intitulado “Ethanol Extraction of Phytosterols from Corn fiber” tendo os mesmos requerentes citados como inventores, a saber, Charles Abbas, Kyle E. Beery, Thomas P. Binder, e Anne M. Rammelsberg. O conteúdo integral do Pedido de patente provisória US número de série 60/555.284 é incorporado a título de referência nesse pedido de patente de utilidade não provisória.

DECLARAÇÃO DE PESQUISA PATROCINADA PELO GOVERNO FEDERAL

[002]O Governo dos Estados Unidos da América tem uma licença paga em relação a essa invenção e o direito em circunstâncias limitadas de exigir que o proprietário da patente autorize outros em termos razoáveis como previsto pelos termos do Número de Concessão 04-03-CA-7060 concedido pelo U.S. DOE (Departamento de Energia).

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

1. Campo da Invenção

[003]A presente invenção refere-se a um método de extração com etanol, de fibra de milho que foi termoquimicamente tratada.

2. Descrição da Técnica antecedente

[004]“Moagem úmida” é um processo pelo qual milho pode ser convertido em etanol, adoçantes de milho e amidos. Como utilizado aqui, “fibra de milho” é definido como “o produto obtido do processo de moagem úmida, que en-

volve infusão inicial de grãos de milho em dióxido de enxofre aquoso em uma temperatura elevada seguido por trituração suave e separação física das camadas de fibra externas do amido, proteína e outros componentes.”

[005]A fibra de milho é produzida por moagem úmida de milho na taxa de 13% por alqueire de milho processado. Uma quantidade superior a 15.000 toneladas de fibras de milho é produzida por dia em moinhos a úmido de acordo com a Corn Refiners Association. Juntamente com a fibra de milho, porções da proteína, óleo e amido do milho são separadas com o fluxo de fibras, e com licor infundido de milho e destilação que são pulverizados na fibra juntamente com farelo de germe de milho, que é misturado no fluxo, um total de aproximadamente 25% do milho processado se torna parte do fluxo de ração de glúten de milho. O licor infundido de milho é o líquido que é derivado da infusão inicial dos grãos de milho, e destilado é o resíduo da destilação do caldo de fermentação de etanol, compreendendo principalmente água, não voláteis e sólidos derivados principalmente de massa de célula de levedura. O licor infundido de milho e destilação fornecem nutrientes e proteína à ração de glúten de milho, que é um fluxo de subproduto de baixo valor o qual é vendido como ração de animal. Na presente invenção, um método eficaz em termos de custo é fornecido que upgrades o fluxo de fibra de milho em componentes mais valiosos e usáveis.

[006]Fibra de milho é composta de aproximadamente 15-25% de amido, 10-13% de proteína, 33-42% de hemicelulose, 15-18% de celulose, 3-6% de cinza, 3-6% de óleo e 1-2% de outros componentes. A hemicelulose é composta de 50-55% de xilose, 30-35% de arabinose, 4-6% de galactose, 3-5% de ácido D-glucurônico e 2-5% de outros componentes incluindo manose, ácido cumárico e ácido ferúlico. O fluxo de fibra de milho na usina vindo das prensas

de desidratação contém 30-50% de sólidos. Durante tratamento termoquímico da fibra de milho, a fibra é aquecida a 130-180° Centígrados(C), que solubiliza as frações de amido e hemicelulose, enquanto deixa a celulose intacta. Amido é composto de dois tipos de polímeros de glicose, amilose e amilopectina. Amilose é um polímero linear com as moléculas de glicose ligadas por ligações  $\alpha$ -1,4-glicosídicas e amilopectina é um polímero altamente ramificado com as moléculas de glicose ligadas por ligações  $\alpha$ -1,4-glicosídicas com ramificações ligadas por  $\alpha$ -1,6. Hemicelulose na fibra de milho é composta de uma estrutura de xilose ligada por  $\beta$ -1,4 com cadeias laterais compostas de arabinose, xilose, galactose, ácido glucurônico, manose, ácido ferúlico e ácido cumárico. O amido pode ser retirado da fibra por hidrólise com uma combinação de calor e enzimas de degradação de amido ou ácido sulfúrico. Sob essas condições, o polímero de amido é hidrolisado primeiramente em oligossacarídeos solúveis, que podem ser adicionalmente hidrolisados em glicose por uma etapa secundária de hidrólise de enzima ou ácido. A hemicelulose pode ser parcialmente hidrolisada pelo tratamento da fibra de milho em temperaturas acima de 121°C, porém a hidrólise completa da estrutura de xilano em monômeros requer tratamento adicional com ácido ou enzimas.

[007]A hidrólise do amido e hemicelulose também podem ser combinados em uma única etapa. A fibra de milho nativa, contendo dióxido de enxofre residual proveniente do processo de infusão, pode ser tratada em temperaturas elevadas com a adição opcional de ácido. Esse tratamento causará hidrólise simultânea do amido e hemicelulose.

[008]Os monossacarídeos a partir do amido hidrolisado e hemicelulose podem ser utilizados em muitas aplicações industriais diferentes incluindo fermentações e conversão catalítica em álcoois de açúcar e subseqüentemente

polióis. A glicose do amido pode ser utilizada em uma fermentação de levedura para produzir etanol, ou pode ser fermentada em outros produtos. A xilose também pode ser similarmente fermentada em diversos produtos derivados por fermentação conhecidos por aqueles versados na arte. O ácido ferúlico pode ser utilizado como estoque de alimentação para a produção de vanilina.

[009]A fibra de milho restante após a etapa de hidrólise pode ser então contatada com um solvente para extração do óleo presente. Por exemplo, a patente US número 5.843.499 (Moreau e outros) revela que a fração de óleo, que contém fitoesteróis, pode ser extraída da fibra de milho utilizando hexano na presença do antioxidante, BHT. O processo descrito por Moreau e outros foi concluído em fibra de milho triturada, seca em temperatura ambiente com agitação. A extração exposta por Moreau e outros resultou em óleos misturados contendo triglicerídeos (TAG), ésteres de ácido graxo de fitoesteróis (St-FA), ácidos graxos livres (FFA), tocoferóis, fitoesteróis livres (St), e ésteres de ácido ferúlico de fitoesteróis (St-F). Moreau e outros reportam que a percentagem total de óleo em fibra de milho normal é tão elevada quanto 3,33 por cento em peso. Além disso, Moreau e outros reportaram aproximadamente 18% (peso/peso) de teor total de esterol (St-FA, St e St-F) no óleo extraído com 8% como St-FA.

[010]Fitoesteróis, incluindo beta-sitosterol e seu glicosídeo beta-sitosterolina, lembram estreitamente a molécula de colesterol. Essas moléculas interferem na absorção de colesterol em seres humanos. A absorção reduzida de colesterol a partir dos intestinos diminui lipoproteína de baixa densidade (LDL) que reduz os níveis de colesterol de plasma.

[011]Para as finalidades da presente invenção, fitoesteróis incluem, por exemplo, porém não são limitados a, beta-sitosterol, sitoestanol, campesterol,

campestanol, estigmaesterol, estigmaestanol, brassicasterol e outros compostos contendo o sistema de anel de esterol. Como utilizado aqui, “esteróis totais” incluem, porém não são limitados a todos os fitoesteróis descritos aqui. Como utilizado aqui, fitoesteróis também incluem glicosídeos de esterol, ésteres de ácido graxo de esterol e ésteres de ferulato de esterol.

[012]O método revelado por Moreau e outros difere significativamente da presente invenção em que as extrações descritas na presente invenção são concluídas em fibra de milho termoquimicamente tratada com elevado teor de sólidos. Além disso, as extrações do processo da presente invenção podem ser realizadas em fibra de milho seca ou fibra de milho não triturada, úmida. A falta de necessidade de fibra de milho totalmente seca é uma vantagem do processo da presente invenção porque a energia necessária para reduzir a fibra de 65% de água (típico para fibra de milho mecanicamente desidratada) para 0% de água infinita é elevada. Adicionalmente, explosões de pó de grão são um risco potencial para operações de armazenagem e moagem de grãos. Ao processar fibra de milho não triturada, úmida, a chance de uma explosão de pó de grão é minimizada. As concentrações de 0%/100% de água/etanol até 30%/70% de água/etanol do agente de extração são utilizadas no processo da presente invenção para extrair os fitoesteróis. Se o teor de água da fibra de milho após tratamento termoquímico for 65%, então 325% do peso do fluxo total de fibra de milho necessitarão ser adicionados em etanol anidro para obter um solvente de 80%/20%. Portanto, se a quantidade de água presente na fibra de milho puder ser reduzida antes da extração, o uso de etanol serão muito diminuído.

[013]Etanol e misturas de etanol/água são mais compatíveis com as usinas atuais de moagem úmida de milho que produzem etanol, uma vez que

tanto etanol como água estão disponíveis para uso nessas usinas.

#### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[014]A presente invenção provê um processo para extração de esteróis a partir de fibra de milho compreendendo obter uma pasta de fibra de milho tendo um teor de umidade de aproximadamente 20 por cento em peso a 50 por cento em peso de sólidos (isto é, teor elevado de sólidos), processar termoquimicamente a pasta de fibra de milho para produzir uma pasta de fibra de milho hidrolisada, desidratar a pasta de fibra de milho hidrolisada para obter uma fibra de milho residual tendo teor de umidade de aproximadamente 30 a 80 por cento em peso de sólidos, lavar (pelo menos uma vez) a fibra de milho residual com água, desidratada a pasta de fibra de milho hidrolisada, lavada para obter uma fibra de milho residual tendo um teor de umidade de aproximadamente 30 a 80 por cento em peso de sólidos, e extrair (pelo menos uma vez) a fibra de milho residual com etanol e separar pelo menos um esterol a partir da mesma. Em uma modalidade mais preferida desse processo o esterol extraído é um fitoesterol que é selecionado do grupo que consiste em formas de alfa, beta e gama de sitoesterol, sitoestanol, estigmaesterol, estigmaestanol, campesterol, campestanol, espinaesterol, ésteres de fitoesterol, ésteres de fitoestanol e misturas dos mesmos.

[015]Em outra modalidade da presente invenção como descrito aqui, o processo inclui processar termoquimicamente a pasta de fibra de milho pelo aquecimento da pasta de fibra de milho de aproximadamente 130 graus Centígrados até aproximadamente 180 graus Centígrados, e mais preferivelmente de aproximadamente 130 graus centígrados até aproximadamente 190 graus Centígrados, por pelo menos aproximadamente um minuto, e mais preferivelmente de aproximadamente 2 a 60 minutos.

[016] Ainda em outra modalidade da presente invenção o processo inclui o fato de que a pasta de fibra de milho tem um teor de umidade de aproximadamente 20 a 50 por cento em peso de sólidos.

[017] Em outra modalidade da presente invenção, o processo inclui ainda repetir a extração da fibra de milho residual pelo menos uma vez com etanol.

[018] Outra modalidade do processo da presente invenção inclui realizar a extração da fibra de milho residual em uma temperatura de aproximadamente 25 graus Centígrados até 75 graus Centígrados por pelo menos um minuto, e de preferência de aproximadamente 30 a 120 minutos.

[019] Em uma modalidade preferida da presente invenção como descrito aqui, o processo inclui o fato de que o teor de etanol/água em uma base de volume/volume é de aproximadamente 70%/30% a aproximadamente 100%/0%, e mais preferivelmente o teor de etanol/água em uma base de volume/volume é 95% de etanol e 5% de água.

[020] Em outra modalidade da presente invenção, o processo inclui ainda o fato de que o processamento termoquímico da pasta de fibra de milho inclui ainda submeter a pasta de fibra de milho a um ácido.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[021] Como utilizado aqui, "fitoesteróis" inclui, por exemplo porém não são limitados a, beta-sitoesterol, sitoestanol, campesterol, campestanol, estigmaesterol, estigmaestanol, brassicasterol, e outros compostos contendo o sistema de anel de esterol. Como utilizado aqui "esteróis totais" incluem, por exemplo porém não são limitados a, todos os fitoesteróis descritos aqui. Como utilizado aqui, fitoesteróis também incluem glicosídeos de esterol, ésteres de ácido graxo de esterol e ésteres de ferulato de esterol.

[022]Uma das principais questões ao elaborar um processo econômico para a hidrólise de fibra de milho é o uso e disponibilidade de água de processo. Em uma usina, água de processo é tanto relativamente cara como limitada. Por exemplo, fluxos de fibra de milho desidratadas pelas prensas Varenips contêm 50-70% de água; entretanto, o material tem pouca água não absorvida. Isto é porque as frações de carboidrato (amido, hemicelulose e celulose) da fibra de milho são capazes de absorver grandes quantidades de água. Uma pessoa versada na arte reconhecerá que para ter um material que possa ser agitado, o teor de umidade da pasta necessita estar acima de 80%. O processo da presente invenção não requer formar em pasta o material em uma suspensão aquosa desde que o material seja aquecido em um reator enquanto é misturado para assegurar transferência de calor adequada. Portanto, no processo detalhado da presente invenção não há exigência de que a fibra de milho seja preparada em uma pasta aquosa que é agitada e portanto grandes volumes de água não são necessários.

[023]Outra questão diretamente relacionada à quantidade de água contida na pasta de fibra de milho é a concentração de açúcares de monossacáridos que estão presentes no hidrolisado de fibra de milho. À medida que o teor de água aumenta, a pasta de açúcar produzida se torna mais diluída, de modo que quando o hidrolisado é fermentado, a concentração de etanol diminui. Abaixo de 5% de etanol, torna-se não econômico destilar o etanol a partir do caldo de fermentação.

[024]Outros fluxos da usina são freqüentemente utilizados no lugar de água de processo. Em outra modalidade da presente invenção, fluxos de processo alternativos, como licor de infusão de milho e destilação, podem ser utilizados no preparo da pasta de fibra de milho. Essas fontes fornecem água, po-

rém contêm também sólidos solúveis e insolúveis em níveis até 14% desse modo influenciando a mistura de pastas de líquido de fibra de milho.

[025]A presente invenção provê um processo para extrair esteróis a partir de fibra de milho incluindo hidrólise de fibra de milho em teores elevados de sólidos. Como utilizado aqui, sólidos significa uma pasta de fibra de milho tendo um teor de umidade de aproximadamente 20 por cento em peso até aproximadamente 50 por cento em peso de sólidos. O processo da presente invenção inclui o fato de que a fibra de milho é tirada da usina em um nível de mistura entre 50-70%, e aumentando o nível de umidade para 50-80%. A fibra de milho pode ser termoquimicamente hidrolisada pela utilização de um reator de pressão. Esse tipo de reator pode ser um reator contínuo ou um reator de batelada. O reator contínuo pode utilizar puas para transportar a fibra para dentro do reator e manter uma vedação de pressão no reator. O reator de batelada pode ser um reator de rotação vedado. O aquecimento da fibra pode ser realizado por injeção de vapor para dentro do reator a fim de elevar a temperatura da fibra de milho até aproximadamente 130°C, de preferência até aproximadamente 180°C, e mais preferivelmente até aproximadamente 190°C, e de preferência de aproximadamente 138°C a aproximadamente 145°C, e mais preferivelmente de aproximadamente 150°C a aproximadamente 180°C. A fibra de milho é mantida entre essas temperaturas por pelo menos aproximadamente 1 minuto e de preferência de aproximadamente 2 minutos até aproximadamente 1 hora. A fibra é então removida do reator e é então desidratada para remover o líquido que contém oligossacarídeo.

[026]A hidrólise termoquímica com elevado teor de sólidos de fibra de milho pode ocorrer em uma gama de teores de umidade nas pastas de 20 a 50% de sólidos, e uma faixa de temperaturas de aproximadamente 130°C a

aproximadamente 180°C, e de preferência de aproximadamente 130°C a aproximadamente 190°C, por pelo menos aproximadamente um minuto e mais preferivelmente de aproximadamente 2 minutos a aproximadamente 1 hora. Após a fibra de milho ser termoquimicamente hidrolisada, a mesma é desidratada utilizando uma prensa ou dispositivo de filtração, como por exemplo porém não limitado a, uma prensa de parafuso ou filtro a vácuo. A fibra residual após desidratação tem um teor de umidade de aproximadamente 30% a aproximadamente 80% de sólidos. Esse material pode então necessitar opcionalmente ser parcialmente seco para reduzir o uso global de etanol como discutido aqui.

[027]A fibra é então extraída com pelo menos um, de preferência 3, e mais preferivelmente 7 volumes de aproximadamente 70% a 100% de etanol em uma temperatura a aproximadamente 25°C até aproximadamente 75°C por pelo menos aproximadamente minuto e mais preferivelmente aproximadamente 10 minutos até aproximadamente 2 horas. A fibra de milho pode ser, por exemplo, agitada ou misturada enquanto sendo extraída ou pode ser extraída com um extrator de contracorrente. Após extração, o etanol é processado adicionalmente para separar o óleo.

#### EXEMPLOS

[028]O Exemplo 1 “Extração de fitoesteróis de fibra de milho não tratada termoquimicamente, com etanol” e o Exemplo 2 “Extração de fitoesteróis de fibra de milho tratada termoquimicamente com baixo teor de sólidos, com etanol” expõe extrações de etanol conhecidas de fibra de milho nativa e tratada termoquimicamente em baixo teor de sólidos respectivamente. Os Exemplos 1 e 2 e os resultados de extrações de fitoesteróis são descritos para fornecer uma linha de base para comparação. O Exemplo 3 “Extração de fibra de milho tratada termoquimicamente com elevado teor de sólidos, com 95% de etanol”

expõe o processo da presente invenção.

#### EXEMPLO 1

Extração de fitoesteróis de fibra de milho não tratada termoquimicamente com etanol

[029]Fibra de milho (49,1 kg total) foi misturada com um excesso de água e ajustada para pH 5,5 com hidróxido de sódio. Enzima de  $\alpha$ -amilase FRED Genencor Spezyme foi adicionada à pasta de fibra de milho no dobro da dosagem recomendada. A pasta com baixo teor de sólidos foi tratada em uma cuba de meia lua a 60-95°C por dois dias (48 horas). A temperatura foi levada até 65°C e amiloglicosidase Genencor Optidex L-400 e  $\alpha$ -amilase Novozymes Fungmyl 800L foram adicionados duas vezes a dosagem recomendada e a pasta foi mantida a 65°C por 1 dia (24 horas). A fibra foi desidrata pelo processamento com uma prensa de parafuso e lavada e desidratada novamente 3 vezes. Porções da fibra de milho sem amido, úmida foram extraídas sem agitação utilizando etanol/água (600 mL) em razões variáveis (Tabela 1) a 47°C por duas horas. A pasta de etanol/fibra de milho foi filtrada para remover a fibra de milho e o etanol contendo óleo foi destilado sob pressão reduzida para reduzir o volume. A mistura de etanol-óleo residual foi extraída duas vezes com hexano. A solução de cloreto de sódio saturada foi adicionada durante a extração para encorajar a formação de um limite distinto entre os solventes imiscíveis. A camada de água contendo sal continha quantidades significativas de precipitado e foi descartada sem análise. As camadas de hexano foram combinadas, descoloradas com carvão ativado, secas com sulfato de magnésio e filtradas por gravidade. O hexano foi retirado através de destilação simples sob pressão reduzida e as amostras resultantes foram dessecadas para fornecer as amostras 111A, 111C, 111D e 111E na Tabela 1.

[030]Fibra de milho nativa foi dividida em porções de 100 g (36,8 g de peso seco) e extraída sem agitação utilizando etanol/água em razões variáveis (Tabela 1) a 47°C por duas horas. A pasta de fibra de milho/etanol foi filtrada para remover a fibra de milho, e o etanol contendo óleo foi destilado sob pressão reduzida para reduzir o volume. A mistura de etanol-óleo residual foi extraída duas vezes com hexano. A solução de cloreto de sódio saturada foi adicionada durante a extração para encorajar a formação de um limite distinto entre os solventes imiscíveis. A camada de água contendo sal continha quantidades significativas de precipitado e foi descartada sem análise. As camadas de hexano foram combinadas, descoloradas com carvão ativado, secas com sulfato de magnésio, e filtradas por gravidade. O hexano foi retirado através de destilação simples sob pressão reduzida e as amostras resultantes foram dessecadas para fornecer as amostras 123A, 123B, 123C e 123D na Tabela 1.

#### Exemplo 2

Extração de fitoesteróis de fibra de milho tratada termoquimicamente, com baixo teor de sólidos, com etanol

[031]Fibra de milho a 13% de sólidos foi tratada em um reator agitado a 150°C por trinta minutos sem adição de ácido. Após 30 minutos o reator foi imediatamente resfriado até 95°C e a fibra de milho foi removida do reator. A fibra foi então desidratada por filtração sob pressão reduzida, lavada com água deionizada, e desidratada novamente. Porções da fibra de milho termoquimicamente tratadas, úmidas foram extraídas sem agitação utilizando etanol/água (750 mL) em razões variáveis (Tabela 1) a 47°C por duas horas. O primeiro extrato foi obtido por filtração da fibra de milho. Uma segunda extração foi concluída na massa de filtro resultante utilizando a mesma concentração de água/etanol, tempo e temperatura que a primeira extração. Os dois filtrados de

etanol foram combinados e o etanol foi reduzido através de destilação sob pressão reduzida. Quando a destilação diminuiu significativamente, o conteúdo do recipiente fixo foi resfriado e extraído duas vezes com hexano. A solução de cloreto de sódio saturada foi adicionada durante a extração para encorajar a formação de um limite distinto entre os solventes imiscíveis. A camada de água contendo sal continha quantidades significativas de precipitado e foi descartada sem análise. As camadas de hexano foram combinadas, descoloradas com carvão ativado, secas com sulfato de magnésio e filtradas por gravidade. O hexano foi removido através de destilação simples sob pressão reduzida e as amostras resultantes foram dessecadas para fornecer as amostras 129A-D na Tabela 1. Os resultados são compatíveis com outras extrações de etanol/água de fibra de milho (Tabela 1).

[032]Fibra de milho a 13% de sólidos (1000 g total) foi tratada em um reator agitado a 150°C por trinta minutos. Após 30 minutos, 11,13 mL de 9.12M de solução de hidróxido de sódio foram bombeados para dentro do reator a fim de efetuar um tratamento de base. Após 5 minutos, 3,71 mL de ácido sulfúrico a 50% foram adicionados ao reator para neutralizar o conteúdo do reator. O reator foi imediatamente resfriado até 95°C e a fibra de milho foi removida do reator. A fibra foi então desidratada por filtração sob pressão reduzida, lavada com água deionizada e desidratada novamente. A fibra de milho termoquimicamente tratada, úmida foi extraída sem agitação utilizando 70% de etanol/30% de água (Tabela 1) em aproximadamente 47°C por aproximadamente 2 horas. O primeiro extrato foi obtido por filtração da fibra de milho. Uma segunda extração foi concluída na massa de filtro resultante utilizando a mesma concentração de etanol/água e temperatura que a primeira extração por aproximadamente 1,75 horas. Os dois filtrados de etanol foram combinados e o etanol foi redu-

zido através de destilação sob pressão reduzida. Quando a destilação diminuiu significativamente, o conteúdo do recipiente fixo foi resfriado e extraído duas vezes com hexano. A solução de cloreto de sódio saturada foi adicionada durante a extração para encorajar a formação de um limite distinto entre os solventes imiscíveis. A camada de água contendo sal continha quantidades significativas de precipitado e foi descartada sem análise. A camada de hexano foi combinada, descolorada com carvão ativado, seca com sulfato de magnésio e filtrada por gravidade. O hexano foi removido através de destilação simples sob pressão reduzida e a amostra resultante foi dessecada para fornecer a amostra 144 na Tabela 1. Os resultados são compatíveis com outras extrações de etanol/água de fibra de milho (Tabela 1).

[033]Fibra de milho a 13% de sólidos (1077 g) total foi ajustada em pH para aproximadamente 5,34 com hidróxido de sódio e 2 mL de Genencor Spezyme FRED foram adicionados para retirar o amido da fibra de milho. A pasta foi aquecida até aproximadamente 121°C por aproximadamente 30 minutos e então 4,4 mL de ácido sulfúrico a 50% foram adicionados para efetuar um tratamento de ácido. Após aproximadamente 5 minutos, 12 mL de 9.12 M de hidróxido de sódio foram adicionados para neutralizar a pasta e a pasta foi resfriada e filtrada sob pressão reduzida. Metade da fibra de milho residual foi extraída com etanol sem agitação utilizando 70% de etanol/30% de água (Tabela 1) a aproximadamente 47°C por aproximadamente duas horas. O primeiro extrato foi obtido por filtração da fibra de milho. Uma segunda extração foi concluída na massa de filtro resultante com 70% de etanol/30% de água a aproximadamente 46°C por aproximadamente 2,5 horas. Os dois primeiros filtrados de etanol foram combinados e o etanol foi reduzido através da destilação sob pressão reduzida. Quando a destilação diminuiu significativamente, o conteúdo

do recipiente fixo foi resfriado e extraído duas vezes com hexano. A solução de cloreto de sódio saturada foi adicionada durante a extração para encorajar a formação de um limite distinto entre os solventes imiscíveis. A camada de água contendo sal continha quantidades significativas de precipitado e foi descartada sem análise. A camada de hexano foi combinada, descolorada com carvão ativado, seca com sulfato de magnésio e filtrada por gravidade. O hexano foi removido através de destilação simples sob pressão reduzida e a amostra resultante foi dessecada para fornecer a amostra 148 na Tabela 1. Os resultados são compatíveis com outras extrações de etanol/metanol de fibra de milho (Tabela 1).

Tabela 1. Avaliação de composições de água/etanol em espécie extraída de fibra de milho nativa úmida

ID da amostra	CFH úmida (g); CFH seca (g)	% (v/v) de água em solvente de extração de etanol <sup>(a)</sup>	% de material extraído (peso/peso)	Massa de amostras; % em peso de óleo final com base em massa de CF seco	Componentes de lipídeos observados por cromatografia de camada fina (mais abundante a menos abundante)
111A	--;35,6	5	--	300 mg; 0,8%	TAG, FFA, St, St-F, St-FA
111C	100,0; 35,6	15	--	320 mg; 0,8%	FFA, TAG, St, St-F, St-FA
111D	100,0; 35,6	20	--	160 mg; 0,4%	FFA, TAG, St, St-F, St-FA
111E	100,0; 35,6	25	--	160 mg; 0,4%	FFA, St, St-F, TAG, St-FA
123A	100,0; 36,8	10	2,6	450 mg; 1,2%	FFA, TAG, St, St-F, St-FA
123B	100,0; 36,8	20	1,4	200 mg; 0,5%	FFA, TAG, St, St-F, St-FA
123C	100,0; 36,8	25	3,6	220 mg; 0,5%	FFA, St, St-F, TAG, St-FA
123D	100,0; 36,8	30	3,2	160 mg; 0,4%	FFA, St, St-F
129A	200,0; 52	15	1,5	1090 mg; 2,1%	FFA, St, TAG, St-F, St-FA
129B	200,3; 52,3	20	0,7	590 mg; 1,1%	FFA, St, TAG, St-F, St-FA
129C	201,3; 52,3	25	0,9	530 mg; 1,0%	FFA, St, TAG, St-F, St-FA
129D	200,1;	30	1,1	480 mg; 0,9%	FFA, St, St-F

	52,1				
144	--; 59,4	30	12	750 mg; 1,3%	FFA, St, TAG, St-F
148	347,3; 126,5	30	12	1160 mg; 0,9%	FFA, St, St-F

(a): Esse número incluiu a água presente em fibra de milho nativa úmida para a extração inicial e era o teor de água do solvente de re-extração para o segundo estágio. TAG= triglicerídeos. FA-est = ésteres de ácido graxo; FFA= ácidos graxos livres; St = fitoesteróis; St-F= fitoesteróis ferulatos; St-FA = fitoesteróis ésteres de ácido graxo

### EXEMPLO 3

Extração de fibra de milho termoquimicamente tratada, com elevado teor de sólidos, com 95% de etanol

[034]Experimentos em grande escala foram realizados em um reator de tambor. Um reator de tambor é um tanque de pressão de 189,2 L com camisa que utiliza rotação do reator inteiro para mistura, em vez de ter um agitador de rotação (impulsor) no interior do tanque. Pelo uso desse método, a carga de sólidos pode ser mais elevada do que a limitação de pasta de 15% de sólidos ao misturar por um agitador. O método de hidrólise é hidrólise catalisada por SO<sub>2</sub> residual dos polissacarídeos na fibra de milho, que incluem amido, hemicelulose e uma quantidade menor de celulose. O SO<sub>2</sub> residual presente na fibra de milho resulta do processo de infusão de milho. Para os cursos números 4232-35, 4232-37, 4232-40, e 4232-43, a fibra foi colocada em um reator de tambor de 189,2 L, e a pressão no reator e camisa foi aumentada aproximadamente 3,515 a 4,218 kg/m<sup>2</sup>, que corresponde a aproximadamente 138°C até aproximadamente 145°C. O reator foi mantido em pressão e girado a 1 rpm por 30 minutos e então despressurizado e parado. A pasta de fibra foi imediatamente desidratada pelo processamento da pasta através de uma prensa de parafuso ou por filtração sob pressão reduzida. O resíduo de fibra foi então la-

vado duas vezes com um excesso de água quente (tendo uma temperatura de aproximadamente 50°C a aproximadamente 100°C) e a água de lavagem foi removida por uma prensa de parafuso ou por filtração sob pressão reduzida e coletada. O hidrolisado líquido do curso número 4232-43 foi coletado e submetido a uma etapa de hidrólise de ácido secundária (1% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 121°C por 30 minutos) em uma autoclave para hidrolisar os oligossacarídeos presentes em solução para monossacarídeos a fim de produzir um estoque de alimentação de fermentação. Para o restante dos cursos, uma pequena amostra do hidrolisado foi submetida a autoclave a aproximadamente 121°C por aproximadamente 30 minutos com 1% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para fins de análise. Os detalhes de cada curso são mostrados na Tabela 2 e os resultados analíticos são mostrados na Tabela 3 abaixo. O "-1" na Tabela 3 se refere ao filtrado original e "-2" se refere ao filtrado que foi tratado com ácido para hidrolisar os oligossacarídeos em monossacarídeos. As pentoses incluem xilose e arabinose e as hexoses incluem glicose e galactose.

[035]O curso número 4232-49 foi concluído com o mesmo procedimento que os cursos números 4232-35 a -43, porém após a etapa inicial de hidrólise, o reator foi despressurizado e 300 mL de enzimas foram adicionados à pasta de fibra. As enzimas adicionadas foram 50 mL cada de hemicelulases da Dyadic International FoodCel Plus, ViscoStar 150L, CiscoStar CL CONC, e Neutral Fungal Cellulase,  $\alpha$ -amilase FRED Genencor International Spezyme e amiloglicosidase Novozymes Optidex L-400. O reator foi mantido a aproximadamente 60°C por aproximadamente 48 horas e então a fibra foi desidratada e lavada duas vezes com desidratação entre as mesmas.

[036]O curso número 4232-52 foi concluído com o mesmo procedimento que os cursos números 4232-35 a -43, porém após a etapa inicial de hidrólise

se, o reator foi despressurizado e 1 por cento em peso (% em peso) de ácido sulfúrico foi adicionado à pasta de fibra. O reator foi levado até aproximadamente 130°C e a pasta foi hidrolisada por aproximadamente 45 minutos. Esse curso foi concluído para determinar se os oligossacarídeos solúveis gerados na hidrólise inicial poderiam ser hidrolisados para monossacarídeos pelo ácido antes do líquido ser separado dos sólidos.

Tabela 2. Detalhes do curso do reator de tambor.

Curso número	Peso seco de fibra de milho (kg)	Teor de sólidos de pasta de fibra de milho	Tempo de hidrólise (min)	Temperatura de hidrólise (C).	Solubilização
4232-35	4,9	35%	30	150	36%
4232-37	4,9	35%	30	150	40,5%
4232-40	4,5	30%	30	138	40,9%
4232-43	4,7	30%	30	138 a 150	48,1%
4232-49	4,9	30%	30+2880	138 a 150 então 60	50,4%
4232-52	4,3	30%	45+45	138 a 150 então 130	67,6%

Tabela 3. Resultados analíticos para filtrados de reator de tambor (cursos números 4232-) (em g/L)

ID de curso 4232	Proteína	hexoses	pentoses	Ácido acético	HMF	Furfural	Ácido cumárico	Ácido ferúlico
35-1	18,7	5,4	14,8	2,5	0,04	0,04	0	0,00
35-2	21,8	27,7	32,4	3,3	0,32	0,94	0,05	0,06
37-1	18,3	5,1	15,4	2,1	0,24	0,90	0,08	0,03
37-2	20,3	24,7	34,6	3,5	0,37	1,11	0,07	0,10
40-1	20	3,3	16,4	0,9	0	0,13	0,06	0
40-2	24	38,1	40,8	2,5	0,02	0,23	0,04	0
43-2	15	20,8	42,8	3,7	0,48	1,73	0	0
49-2	14,41	62,6	89,2	11,8	2,49	9,49	2,3	0,31
52-2	--	23,6	72,5	3,2	0,39	0,16	0	9

[037]Os filtrados e duas lavagens dos cursos números 4232-35, 4232-37 e 4232-40 foram agrupados e concentrados em um pequeno evaporador de circulação natural até uma concentração de sólidos de 20% e então submetidos à hidrólise secundária de ácido pelo aquecimento até aproximadamente 130°C em um reator de tambor por aproximadamente 1 hora com 1% pe-

so/peso de ácido sulfúrico adicionado. O líquido agrupado é designado abaixo como Curso número 4232-45. Os açúcares, proteínas, fenólicos e produtos de degradação são mostrados na Tabela 4, a análise elementar é mostrada na Tabela 5, e a análise de aminoácidos é mostrada na Tabela 6. Os níveis elevados de enxofre são devido ao SO<sub>2</sub> presente mais o ácido sulfúrico adicionado durante a etapa de hidrólise secundária para fins de hidrolisar totalmente os oligossacarídeos.

Tabela 4. Resultados analíticos para hidrolisado concentrado, agrupado (em g/L).

ID de curso	Proteína	hexoses	pentoses	Ácido acético	HMF	Furfural	Ácido cumárico	Ácido ferúlico
4232-45	26	30,79	63,01	1,352	0,564	1,796	0,044	0,078

Tabela 5. Análise elementar para Filtrado de fibra de amido hidrolisada com ácido secundário, concentrado (em mg/kg)

Curso número	Ca	Fe	Mg	Na	P	S	K	Cl
4232-45	116	11,8	469	498	1084	3369	1815	364

Tabela 6. Análise de aminoácido antes e após hidrólise (em mg/kg)

	4232-45-2	4232-45-2 hidrolisado
Ácido aspártico	639	1.300
Treonina	178	863
Serina	157	909
Homoserina	6	<5
Ácido glutâmico	48	3.442
Prolina	117	1.232
Glicina	126	1.147
Alanina	365	1.307

Cistina	<19	<105
Valina	216	890
Metionina	96	301
Isoleucina	136	557
Leucina	288	1.257
Tirosina	157	565
Fenil alanina	205	590
Lisina	256	703
Amônia	545	835
Histidina	52	862
arginina	260	788

[038]Para a etapa de extração de óleo, os resíduos de fibra úmida dos Cursos números 4232-35, -37, -40, -43, -49 e -52 (que variam de aproximadamente 25% a aproximadamente 39% de sólidos secos) foram frouxamente acondicionados em um reator com camisa de 20L não agitado (tendo um diâmetro de aproximadamente 40,6 centímetros e uma altura de aproximadamente 76,2 centímetros), e etanol (95% de etanol/5% de água) foi adicionado (na quantidade de aproximadamente um a cinco litros) até que eluente emergiu do fundo do reator. O reator foi mantido em uma temperatura ajustada durante a extração (vide a Tabela 7). Ar foi passado fluxo abaixo através do reator para forçar o etanol através do reator, e o eluente foi coletado. A fibra foi removida do reator e então o eluente foi colocado no reator e saponificado com KOH (1% de peso/volume em amostras 4232-35, 4232-37, e 4232-40; 2% peso/volume com amostras 4232-43, 4232-49 e 4232-52) por aproximadamente duas horas a aproximadamente 56°C, 65°C ou 75°C, resfriada com ácido, e o volume foi reduzido por evaporação sob pressão reduzida até que a formação de espuma

parou a remoção de etanol. As soluções resultantes foram extraídas duas vezes com um volume igual de hexano. As camadas de hexano concentrado de 4232-40 e 4232-43 foram contra-extraídas com um volume igual de água deionizada para examinar o impacto de uma etapa de extração de água sobre o rendimento das amostras de óleo finais. Cada camada de hexano foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e destilada, e as amostras de óleo resultantes foram recuperadas, pesadas e submetidas à análise. Verificou-se que as camadas de água continham esteróis e estanois, de modo que a etapa de contra-extração de água foi descontinuada.

[039]Os resultados de óleo, esterol e estanol são fornecidos nas Tabelas 7 e 8. A Tabela 8 mostra os esteróis e estanois individuais como uma percentagem do óleo extraído. As amostras 4232-35, -37, -49 e -523 não foram contra-extraídas com água como foram as amostras 4232-40 e 4232-43.

[040]Os resíduos de fibra de milho extraídos com etanol (EtOH) foram secos totalmente e pesados novamente. As perdas de massa da fibra de milho devido à extração são fornecidas na Tabela 7 e variaram de aproximadamente 8 a 28 por cento.

Tabela 7. Sumário de rendimentos de óleo e material extraído de quantidades em quilograma de fibra de milho nativa termoquimicamente tratada

Amostra	Método de extração; EtOH utilizado	Rendimento de óleo (g)	% em peso de óleo extraído de fibra de milho de partida	Esterol e estanol extraído como percentagem da fibra de partida	% de peso perdida da fibra durante extração
4232-35	Úmido, batelada a 56°C; 95%	38	0,775%	0,27%	18
4232-37	Úmido, batelada a 56°C; 95%	23,0	0,469%	0,25%	14
4232-40	Úmido, ba-	13,9 <sup>(a)</sup>	0,308%	0,049%	27

	telada a 65°C; 95%				
4232-43	Úmido, ba- telada a 75°C; 95%	10,6 <sup>(a)</sup>	0,217%	0,093%	7,8
4232-49	Úmido, ba- telada a 75°C; 95%	115,5	2,343%	0,165%	28,1
4232-52	Úmido, ba- telada a 75°C; 95%	119,5	2,758%	0,166%	15,2

(a): Essa amostra de óleo foi dissolvida na quantidade mínima de hexano e contra-extraída com água deionizada três vezes deixando para trás uma emulsão de material solúvel em acetato de etila na camada de água.

Tabela 8. Resultados de esterol para extrações de quilograma de fibra de milho nativa termoquimicamente tratada em base de % em peso de óleo extraído.

Amostra	Coles- terol	Brassi- ca- esterol	Cam- pes- te-rol	Cam- pesta- nol	Estig- manes- terol	Sitos- terol	Sito- esta- nol	Este- róis totais
4232-35	0,43	0,03	1,84	0,51	1,87	7,88	1,89	14,45
4232-37	0,42	0,10	3,14	1,47	2,57	13,00	5,07	25,76
4232-40	--	--	1,83	2,08	1,42	7,22	6,28	18,83
4232-43	--	--	6,18	4,86	3,47	25,0	15,0	54,51
4232-49	0,03	0,01	1,04	1,15	0,54	4,60	4,62	12,00
4232-52	0,12	0,01	0,97	1,11	0,67	4,36	4,12	11,37

#### EXEMPLO 4

Extração de fibra de milho tratada termoquimicamente, com elevado teor de sólidos com 100% de etanol em um extrator de contracorrente contínuo

[041] Experimentos em grande escala adicionais foram conduzidos em um reator de tambor. O método de hidrólise é hidrólise catalisada por SO<sub>2</sub> residual dos polissacarídeos na fibra de milho, que incluem amido, hemicelulose e uma quantidade menor de celulose. Nos cursos número 4232-72-1 até número 4232-72-9, a fibra foi colocada em um reator de tambor de 189,2 L, e a pressão no reator e camisa foi aumentada até aproximadamente 4,218 kg/m<sup>2</sup>, que cor-

responde a aproximadamente 145°C. Para cada um dos nove cursos, o reator foi mantido na pressão e girado a 1 rpm por 30 minutos e então despressurizado e parado. A pasta de fibra foi imediatamente desidratada pelo processamento da pasta através de uma prensa de parafuso. O resíduo de fibra foi então lavado duas vezes com um excesso de água quente (tendo uma temperatura de aproximadamente 50°C a aproximadamente 100°C) e a água de lavagem foi removida por uma prensa de parafuso e coletada. Os hidrolisados líquidos e lavagens dos Cursos número 4232-72-1 até número 4232-72-9 foram coletados e submetidos a uma etapa secundária de hidrólise de ácido (1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 121°C por 30 minutos) em um reator agitado de 189,2 L para hidrolisar os oligossacarídeos presentes na solução para monossacarídeos para produzir um estoque de alimentação de fermentação. Os detalhes de cada curso são mostrados na Tabela 9.

Tabela 9: Detalhes dos cursos número 4232-72-1 até número 4232-72-

9

Curso nº	-72-1	-72-2	-72-3	-72-4	-72-5	-72-6	-72-7	-72-8	-72-9
4232									
Massa de fibra inicial	11,1	11,8	9,7	10,8	10,6	11,8	10,6	11,3	10,9
Temperatura (C) @ 4,218 kg/m <sup>2</sup>	145	145	145	145	145	145	145	145	145
Massa de fibra hidrolisada	12,2	13,3	11,8	12,5	11,9	14,0	12,5	12,5	12,2
Massa de hidrolisado	4,3	4,2	5,0	5,3	4,4	4,6	4,6	3,9	3,9
Massa de água de lavagem	13,1	15,4	15,0	14,5	13,0	13,2	14,1	13,4	14,3

Massa de resíduo de fibra	5,9	5,6	4,8	5,3	4,8	5,9	5,3	5,7	5,3
Massa de lavagem	14,5	15,8	15,9	14,8	13,4	14,1	14,8	14,1	16,6
Umidade de amostra inicial	57,5%	57,5%	57,5%	59,9%	58,8%	58,8%	58,8%	59,4%	59,7%
Umidade de hidrolisado	77,7%	79,9%	79,2%	78,4%	78,0%	78,3%	77,6%	76,6%	75,5%
Umidade de lavagem	95,7%	96,9%	96,7%	96,1%	95,8%	94,8%	95,2%	94,7%	94,5%
Umidade de resíduo de fibra final	58,2%	55,8%	57,7%	60,6%	57,1%	54,8%	56,2%	59,6%	61,8%
Solubilização	47,8%	56,6%	47,7%	52,3%	51,4%	44,9%	47,1%	50,0%	54,2%

[042]O hidrolisado de fibra de milho hidrolisada com ácido secundário, agrupado foi concentrado em um evaporador vertical de tubo longo, com circulação forçada até uma concentração de sólidos de 31%. Os resultados analíticos do hidrolisado agrupado são mostrados na Tabela 10 abaixo. O líquido agrupado é designado abaixo como Curso número 4232-72. Os níveis elevados de cinza são devido principalmente ao enxofre no SO<sub>2</sub> mais o ácido sulfúrico adicionado durante a etapa secundária de hidrólise para fins de hidrolisar totalmente os oligossacarídeos. As pentoses incluem xilose, arabinose e frutose; e as hexoses incluem glicose, manose e galactose.

[043]O resíduo de fibra de milho termoquimicamente hidrolisado do Curso número 4232-72 (44,8 kg de 56% de umidade, 25,09 kg de peso seco) foi extraído com 99,9% de etanol em um extrator de contracorrente Crown com seis estágios. O extrator foi operado com etanol a 65,6°C, uma taxa de alimentação de 200 mL/min de etanol, e uma velocidade de arrasto de corrente de aproximadamente 3,81 cm/min. A fibra foi adicionada ao arrasto de corrente até

o topo de cada seção à medida que a corrente passou pela abertura de alimentação. 189,2 litros de etanol foram utilizados para extrair a fibra. Após a fibra ser extraída, entrou imediatamente em um desolventizer (DT) onde foi aquecida e agitada com dois misturadores de fita para evaporar o etanol. O etanol entrou em um condensador e foi bombeado de volta para o último estágio do extrato (onde o etanol novo entrou). O DT foi mantido a aproximadamente 60°C com aquecimento a vapor e estava sob pressão reduzida, de modo que os vapores de etanol entrariam no condensador. O etanol a partir do extrator foi coletado para tratamento adicional.

[044]O etanol contendo óleo da extração foi concentrado em um evaporador vertical, de tubo longo com circulação forçada com bombas na entrada e saída para operação contínua. 189,2 L de etanol utilizados para extração absorveram a água presente na fibra de milho, de modo que o volume foi aumentado para 208,2 L. O evaporador foi operado a 108 kPa de pressão de vapor, 20 kPa, e uma temperatura de líquido de aproximadamente 46-49°C. 208,2 L de extrato de óleo/etanol foram alimentados no evaporador e evaporados até um total de 11,4 L. O etanol evaporado foi coletado e armazenado. O extrato de óleo concentrado foi alimentado em um evaporador de circulação natural menor. 11,4 L de extrato de óleo concentrado foram concentrados até 2,84 kg de extrato de óleo. As concentrações de esteróis no extrato de óleo são mostradas na Tabela 11, antes e após saponificação. As concentrações mais elevadas de fitoesteróis livres são Sitoesterol e Sitoestanol como esperado. Nas composições de óleo mostradas na Tabela 12, o componente predominante é Triglicerídeos seguido por Ácidos graxos livres. A análise do óleo foi utilizada para determinar a percentagem de óleo extraído e percentagem de fitoesterol extraído. A massa do concentrado de óleo extraída da fibra foi 2,42 kg, e a

massa estimada de fibra nativa de partida, após perdas de processamento através da prensa de parafuso e reator, é 40,6 kg. Isso fornece um rendimento de óleo com base na massa inicial de fibra de milho seca de 4,7% e um rendimento de fitoesterol com base na massa inicial de fibra de milho seca de 0,55%.

Tabela 10: Concentrado de hidrolisado de fibra de milho hidrolisado com ácido secundário para Curso número 4232-72

ID de curso	Proteína	Hexoses	Pentoses	Acético	HM F	Furfural	Cinza	Carbono orgânico total
4232-72	32,5	67	103	4,4	0,4	0,05	16,8	132

Tabela 11: Concentrações de esterol em amostra de óleo de fibra de milho (g/L)

	4232-172 Extrato de óleo após saponificação	4232-172 Extrato de óleo
Campesterol	8,49	4,23
Campestanol	8,53	1,34
Estigmaesterol	4,87	4,34
Sitoesterol	32,34	18,85
Sitoestanol	24,88	4,16
Esteróis totais	79,11	32,92

Tabela 12: Concentrações de componentes de óleo (g/L)

Id de amostra	4232-172 Extrato de óleo
Total de ácidos graxos livres	118,9
Total de monoglicerídeos	3,7
Total de diglicerídeos	16,0
Total de triglicerídeos	457,9

[045]Os Exemplos 1 e 2 acima descrevem extrações de fibra de milho que não foi tratada, ou tratada por enzimas. O Exemplo 2 descreve o tratamento termoquímico de fibra de milho em níveis de baixo teor de sólidos com extração de fitoesteróis. O tratamento termoquímico de baixo teor de sólidos leva a

um líquido de fermentação com concentrações baixas de açúcar, que resultaria em baixas concentrações de produto após fermentação ou catálise. Para etanol especificamente, a concentração final de etanol de caldo de fermentação necessita estar acima de 5% para recuperação econômica por destilação. O hidrolisado de fibra de milho pode ser extensamente concentrado por evaporação da água antes da fermentação, entretanto, isto também requer uma grande entrada de energia. No processo da presente invenção, a fibra de milho é termoquimicamente tratada com calor e opcionalmente, ácido, em temperaturas de aproximadamente 130°C a aproximadamente 190°C por pelo menos um minuto, e de preferência por aproximadamente 2 minutos a 1 hora, em um nível de sólidos de aproximadamente 20% a aproximadamente 50%. Esse tratamento diminui o volume da fibra de milho e portanto, o volume de etanol necessário para extração do óleo sem diminuir o rendimento ou alterar a composição do óleo.

[046]A presente invenção revela um processo para tratar termoquimicamente uma pasta com elevado teor de sólidos de fibra de milho e então extrair a fibra de milho residual com etanol para separar os fitoesteróis. Os exemplos expostos aqui mostram que pastas de fibra de milho com teores de umidade de 50-80% podem ser tratadas para solubilizar amido e hemicelulose em um grau variável. Além disso, o uso de etanol como agente de extração no modo de batelada, semibatelada ou contínuo é ilustrado pelos exemplos acima.

[047]Embora modalidades específicas da presente invenção tenham sido descritas para fins de ilustração, será evidente para aquelas pessoas versadas na arte que inúmeras variações dos detalhes da presente invenção podem ser feitos sem se afastar da invenção como definido nas reivindicações apenas.

## REIVINDICAÇÕES

1. Processo para extrair esteróis a partir de fibra de milho, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

obter uma pasta de fibra de milho tendo um teor de umidade de 20 por cento em peso a 50 por cento em peso de sólidos;

processar termoquimicamente a referida pasta de fibra de milho em um nível de sólidos de 20 a 50 por cento em peso de sólidos para produzir uma pasta de fibra de milho hidrolisada, em que o referido processamento termoquímico da referida pasta de fibra de milho inclui aquecer a referida pasta de fibra de milho de 130 °C a 190 °C por um minuto;

desidratar a referida pasta de fibra de milho hidrolisada para obter uma fibra de milho residual tendo teor de umidade de 30 a 80 por cento em peso de sólidos;

lavar a referida fibra de milho residual;

desidratar a referida pasta de fibra de milho hidrolisada, lavada para obter uma fibra de milho residual tendo um teor de umidade de 30 a 80 por cento em peso de sólidos; e

extrair a referida fibra de milho residual com etanol e separar um esteroi.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a pasta de fibra de milho tem um teor de umidade de 30 a 80 por cento em peso de sólidos durante o referido processamento termoquímico.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o referido esteroi é um fitoesteroi.

4. Processo, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que os referidos fitoesteróis são selecionados do grupo que consiste em

sitoesterol, sitoestanol, estigmaesterol, estigmaestanol, campesterol, campes-  
tanol, espinaesterol, ésteres de fitoesterol, ésteres de fitoestanol e misturas dos  
mesmos.

5. Processo, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo  
fato de que o rendimento total de fitoesteróis extraídos da fibra de milho varia  
de 0,1 a 1% com base na massa seca inicial de fibra de milho.

6. Processo, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo  
fato de que o rendimento total de fitoesteróis extraídos da fibra de milho varia  
de 0,25 a 0,6% com base na massa seca inicial de fibra de milho.

7. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo  
fato de que inclui a repetição da referida extração da referida fibra de milho re-  
sidual uma vez com o referido etanol.

8. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo  
fato de que a referida extração da referida fibra de milho residual é realizada  
em uma temperatura de 25°C a 75°C por um minuto.

9. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo  
fato de que o referido processamento termoquímico é realizado de 2 minutos a  
60 minutos.

10. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pe-  
lo fato de que o teor de etanol/água em uma base de volume/volume é de  
70%/30% a 100%/0%.

11. Processo, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO**  
pelo fato de que o referido teor de etanol/água em uma base de volume/volume  
é 95% de etanol e 5% de água.

12. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pe-  
lo fato de que o referido processamento termoquímico da referida pasta de fibra

de milho inclui ainda submeter a referida pasta de fibra de milho a um ácido.