



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 1006593-8 A2



(22) Data do Depósito: 23/04/2010

(43) Data da Publicação Nacional: 30/06/2020

(54) Título: FRACIONAMENTO DE BIOMASSA PARA O ETANOL CELULÓSICO E PRODUÇÃO QUÍMICA

(51) Int. Cl.: C08H 8/00; B01D 36/00.

(71) Depositante(es): GREENFIELD ETHANOL INC.,.

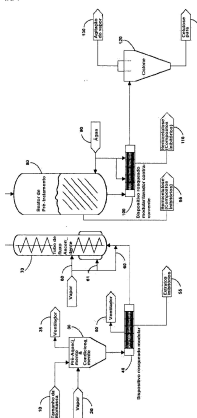
(72) Inventor(es): FRANK A. DOTTORI; ROBERT ASHLEY COOPER BENSON; RÉGIS - OLIVIER BENECH.

(86) Pedido PCT: PCT CA2010000582 de 23/04/2010

(87) Publicação PCT: WO 2010/121367 de 28/10/2010

(85) Data da Fase Nacional: 21/10/2011

(57) Resumo: PROCESSO CONTÍNUO PARA FRACIONAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA PARA ETANOL CELULÓSICO E PRODUÇÃO QUÍMICA Um processo é definido para o pré-tratamento de vapor contínuo e fracionamento de sabugos de milho e biomassa de baixa lignina celulósica para produzir um fluxo de sólida celulose concentrada composta de hidrólise e produtos de degradação da hemicelulose. Glicose derivada celulósica é produzida por fermentação à bio-combustíveis. Um concentrado de hemicelulose é recuperado de modo que possa ser convertido em produtos de valor adicionado incluindo etanol.



"PROCESSO CONTÍNUO PARA FRACIONAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA PARA ETANOL CELULÓSICO E PRODUÇÃO QUÍMICA"

A presente invenção geralmente refere-se à produção de etanol à partir de biomassa lignocelulósica e em particular à um processo para a extração de
5 celulose e hemicelulose à partir de sabugo de milho, e um processo para extração de frações de celulose e hemicelulose de biomassa contendo baixa lignina.

Face ao alto preço do petróleo, segurança e fornecimento e aquecimento global, tem aumentado a demanda para energia renovável. Energia renovável é a
10 energia produzida de biomassa derivada de vegetal. Aplicações com energia renovável como etanol combustível são vistas como uma contribuição valiosa para a redução do consumo de combustível fóssil. Políticas públicas tem apoiado a criação de uma indústria de etanol combustível largamente baseada no uso de milho como uma matéria prima. A produção do etanol combustível ajuda a
15 estabilizar a fazenda agrícola reduzindo os subsídios agrícolas. Entretanto, como a demanda cresce para etanol combustível, adicionais matérias primas como biomassa lignocelulósica são levadas em consideração.

O etano combustível é criado pela fermentação de açúcares derivados de amido. O etanol é destilado e desidratado para criar um alto octano, substituto de
20 gasolina sem água. O etano combustível é misturado com gasolina para produzir um combustível híbrido que tem vantagens ambientais quando comparado à gasolina somente, e podendo ser usado em veículos movidos a gasolina fabricados desde os anos 1980. A maior parte dos veículos movidos à gasolina poderá rodar com uma mistura de gasolina e até 10 por cento de etanol, conhecido como "E-10".
25

Enquanto o milho é a maior matéria prima para produzir etanol na América do Norte, já se torna aparente que o uso em larga escala do etanol para combustível irá requerer novas tecnologias que permitirão à indústria expandir suas opções de matérias primas para incluir celulose.

30 Etano celulósico é fabricado à partir da biomassa lignocelulósica. A biomassa celulósica poderá ser agrupada em quatro principais categorias: (1) resíduos de madeira (lenhosos) (incluindo serragem e descartes da fábrica de papel, (2) resíduo de papel municipal, (3) resíduos agrícolas (incluindo palha de milho,

sabugo de milho e bagaço de cana de açúcar), e (4) colheitas de energia dedicada que são mais compostas de gramas de alto crescimento, gramíneas lenhosas, como capim e *Miscanthus*.

A biomassa lignocelulósica é composta de três polímeros primários que criam as paredes da células vegetais: celulose, hemicelulose e lignina. A celulose é um polímero de D-glicoso. A hemicelulose contém dois diferentes polímeros, ou seja, xilano, um polímero de xilose e glucomanan, um polímero de glicose e manose. A lignina é um polímero de guaiacilpropano – e unidades de siringilpropano.

Fibras de celulose são bloqueadas em uma rígida estrutura de hemicelulose e lignina. A lignina e hemiceluloses formam complexos ligados quimicamente que ligam hemiceluloses solúveis em água em uma série tridimensional, cimentada juntamente pela lignina. A lignina cobre as microfibrilas de celulose protegendo-as de degradação química e enzimática. Esses polímeros provem paredes de células vegetais com força e resistência à degradação, que torna da biomassa lignocelulósica um desafio para o uso como um substrato para a produção de bio-combustível. A variação no conteúdo ou a organização desses polímeros afeta significativamente todas as etapas de produção de etanol celulósico.

A celulose ou β -1-4-glucana é um polímero polissacarídeo de glicose feito de unidades de celobiose. As cadeias de celulose são embaladas por ligações de hidrogênio em microfibrilas. Essas fibrilas são fixadas entre si por hemiceluloses, polímeros amorfos de diferentes açúcares e sendo cobertos por lignina.

A hemicelulose é uma barreira física que circunda as fibras de celulose e protege a celulose contra degradação. Há evidência que a hemicelulose, contendo polímeros de xilose (xilano) limita a atividade das enzimas celulóticas, e assim diminuindo as taxas de conversão da celulose em glicose. Dessa forma, para a produção de açúcares fermentados e etanol, será desejável submeter à hidrólise enzimática com uma altamente celulose reativa baixa em xilano.

A Lignina é uma molécula muito complexa construída de unidades de fenilpropano ligadas em uma estrutura tridimensional que é particularmente difícil de ser degradada. Existem ligações químicas entre lignina, hemicelulose e polímeros de celulose. Há evidência que quanto maior proporção de lignina, maior a resistência à hidrólise química e biológica. A lignina e alguns derivados de lignina solúvel inibem a hidrólise enzimática e os processos de fermentação.

Assim será desejável usar uma matéria prima lignocelulósica que seja baixa em lignina.

Trabalhos publicados de vários processos para a produção de açúcares fermentados de biomassa celulósica mostram a existência de um relacionamento inverso entre o conteúdo de lignina e a eficiência da hidrólise enzimática dos polímeros baseados em açúcar.

As microfibrilas celulósicas são associadas na forma de macrofibrilas. Esta complicada estrutura e a presença de lignina provem as paredes das células vegetais com força e resistência à degradação, que também torna esses materiais um desafio ao uso como substratos para a produção de bio-combustível e bio-produtos. Assim, o pré-tratamento é necessário para produzir celulose altamente reativa reagindo bem com catalisadores como enzimas.

A celulose purificada e xilo-oligossacarídeos livres de lignina são valiosos para muitas finalidades. Especificamente, a celulose reativa extraída da biomassa com baixo conteúdo de lignina poderá ser facilmente hidrolisada para monômeros de açúcar fermentado e então fermentado para etanol, e outros bio-combustíveis. Os xilo-oligossacarídeos livres de lignina extraídos da fração de hemicelulose são valiosos e poderão ser facilmente usados na preparação de substâncias pré-bióticas para alimentos e aplicações farmacêuticas.

O melhor método e condições de pré-tratamento poderá variar e dependerá muito do tipo do material inicial lignocelulósico usado. A configuração do pré-tratamento e condições operacionais deverão ser ajustadas com relação ao conteúdo ou organização dos polímeros lignocelulósicos no material inicial, para alcançar ideal conversão da celulose em açúcares fermentados. O raio (relação) da celulose à lignina é o fator principal. Outros parâmetros a serem considerados são o conteúdo da hemicelulose, grau de acetilação da hemicelulose, área de superfície acessível da celulose, grau de polimerização e cristalinidade.

O conteúdo de lignina do sabugo de milho e certos híbridos de *Miscanthus*, por exemplo, é baixo, ou seja, de 5% à 10%. O sabugo de milho e certos híbridos de *Miscanthus* são bons candidatos para a produção de etanol celulósico devido aos seus favoráveis raios de celulose:lignina:hemicelulose. O sabugo de milho e *Miscanthus* tem raios de 8:1:7 e 5:1:2, respectivamente.

Um efetivo pré-tratamento deverá atingir as seguintes necessidades: (a) produção da fibra celulósica reativa para ataque enzimático; (b) evitar a destruição da celulose e da hemicelulose; e (c) evitar a formação de possíveis inibidores para enzimas hidrolíticas e microorganismos fermentados.

- 5 Vários métodos tem sido investigados para o pré-tratamento dos materiais lignocelulósicos para produzir a celulose reativa. Esses métodos são classificados nos pré-tratamentos físicos, pré-tratamentos biológicos e pré-tratamentos físico-químicos.

10 O estado da técnica mostra que os pré-tratamentos físicos e biológicos não são adequados para aplicações industriais. Métodos físicos como moagem, irradiação e extrusão são altamente energéticos, demandando e produzindo baixa grade de celulose. Além disso, as taxas de conhecidos tratamentos biológicos são muito baixas.

15 Os pré-tratamentos que combinam com os processos químicos e físicos são referidos como processos físico-químicos. Esses métodos estão entre os mais efetivos e incluem os mais promissores processos para aplicações industriais. A hidrólise da hemicelulose e a remoção da lignina são freqüentemente quase completas. O aumento da área de superfície da celulose, aumenta o grau da celulose de grande polimerização e cristalinidade em toda reatividade da
20 celulose. As taxas de tratamento são usualmente rápidas. Esses métodos de pré-tratamento usualmente empregam técnicas hidrolíticas usando ácidos (hidrólise de hemicelulose) e alcalinos para remoção da lignina. O processo de explosão de vapor é bem documentado. Produção de lotes e processos contínuos tem sido testados em laboratórios de escala piloto por vários grupos
25 de pesquisas e companhias. No pré-tratamento de explosão de vapor, a biomassa é tratada em alta pressão, e à altas temperaturas sob condições acídicas, ou seja, 160° C à 260° C por 1 minuto à 20 minutos com pH de valores < pH 4.0. A pressão da biomassa pré-tratada é repentinamente reduzida, que torna os materiais a sofrer uma descompressão explosiva levando à
30 desfibrização das fibras lignocelulósicas.

O pré-tratamento de explosão de vapor não é muito efetivo na dissolução da lignina, mas não rompendo a estrutura da lignina e aumentando a suscetibilidade à hidrólise enzimática. O pré-tratamento de explosão de vapor geralmente

resulta em extensiva quebra da hemicelulose, à uma certa extensão, à degradação da xilose e glicose.

O pré-tratamento da explosão do vapor tem sido aplicado com sucesso em uma ampla variedade de biomassas lignocelulósicas. Ácido acético, ácido sulfúrico, ou dióxido de enxofre são os mais usados como catalisadores.

No processo de auto-hidrólise, nenhum ácido adicionado é requerido para atingir os valores de pH abaixo de 4.0. O ácido acético é liberado durante a quebra da hemicelulose acetilada resultada da alta pressão do vapor aplicada à biomassa durante o estágio de cozimento. O grau da acetilação da hemicelulose é variável entre diferentes fontes de biomassa. O conteúdo de hemicelulose do sabugo de milho é alto. A maior parte da hemicelulose é acetilada, que significa a quebra e a solubilização da hemicelulose, que ocorre durante o pré-tratamento, levando à formação do ácido acético.

O pré-tratamento da biomassa como *Miscanthus* que não tem alto grau de acetilação requer a adição de ácido antes do processo de aquecimento do vapor para alcançar um grau de hidrólise da hemicelulose similar ao processo de pré-tratamento de auto-hidrólise para biomassa altamente acetilada. Diluir pré-tratamentos de explosão de vapor de ácido sulfúrico ou dióxido de enxofre catalisados requerem o uso de 0.1-4.0 de ácido sulfúrico ou 0.5-4.0 de dióxido de enxofre.

A presença de ácido acético reduz a necessidade para catalisador ácido que é benéfico para o processo de pré-tratamento. Entretanto, ácidos minerais, ácidos acéticos e outros ácidos carboxílicos são todos poderosos inibidores tanto da hidrólise como do processo de fermentação de glicose. Minerais e ácidos carboxílicos poderão permanecer na biomassa pré-tratada e conduzidos através da hidrólise e etapas de fermentação. Um processo será desejado que inclua uma etapa de pré-tratamento realizada com valor de pH < pH 4.0 para maximizar a solubilização da hemicelulose. Entretanto, após o pré-tratamento do vapor, o catalisador ácido e os produtos de degradação pré-tratados deverão ser removidos para acentuar a digestão da celulose na etapa de hidrólise enzimática e para capacitar uma mais rápida e completa conversão da glicose em etanol na etapa de fermentação.

É assim, um objetivo da presente invenção prover um processo que supere ao menos uma das acima desvantagens.

Os inventores descobriram que as atividades catalíticas das enzima celulósicas são especificamente inibidas pelas formas solúvel da hemicelulose, ou seja, xilose e xilo-oligossacarídeos solúveis. Assim, produtos de decomposição de hemicelulose liberados durante o pré-tratamento da biomassa que permaneçam na biomassa pré-tratada, e conduzidos através da hidrólise e etapas de fermentação, poderão negativamente afetar a conversão enzimática da celulose em glicose.

Como se mostra aparente da acima discussão de conhecidas abordagens, a melhora em toda a produção de etanol e redução do uso de enzima ou tempo de hidrólise são geralmente ligados ao aumento de custos operacionais. Os custos aumentados poderão superar o valor da melhorada produção de etanol, utilizando existentes métodos economicamente inaceitáveis.

Os inventores descobriram ainda que a completa remoção dos compostos inibitórios não é requerida nem desejada para o alcance de processos de pré-tratamento mais viáveis economicamente. Os inventores também identificaram uma limitada variedade de condições de extração para a remoção de compostos inibitórios nos quais as hemiceluloses e a hidrólise da hemicelulose e os produtos de degradação e outros inibitórios estão ainda presentes, mas reduzidos à um nível onde eles tem um efeito inibitório muito reduzido nas enzimas. Em adição, o fracionamento da biomassa ainda provê uma quantidade econômica de hemicelulose valiosa. A extração é alcançada com inferior volume de diluente e nível de diluição tornando o processo com custo muito mais efetivo. Com efeito, o custo de extração será significativamente inferior que o valor da produção do etanol melhorada, inferior dosagem de enzima, e reduzidos tempos de processamento sendo alcançado. Quando combinado com a temperatura ideal do pré-tratamento, o tempo e purificação das impurezas, um processo econômico para converter biomassas lignocelulósicas em açúcar fermentado sendo alcançado. Em adição, as economias da produção de etanol demandam a maximização do valor em todos os fluxos do bio-produto do processo. Como um exemplo, ácido acético poderá ser recuperado para venda como um produto químico industrial. Além disso, xilo-oligossacarídeos (oligômeros de açúcar não digestivos feitos de unidades de xilose) tem propriedades benéficas à saúde, particularmente sua atividade pré-biótica. Isto os torna candidatos a bio-produtos

com alto valor adicionado. A mistura de xilo-oligossacarídeos de auto-hidrólise de sabugo de milho exibe similar potencial pré-biótico aos produtos xilo-oligossacarídeos comercialmente viáveis.

Um novo processo é descrito para o pré-tratamento da explosão de valor contínuo do sabugo de milho onde ácido mineral é adicionado e a quantidade de ácido acético liberada na etapa de pré-tratamento sendo controlada para maximizar a eficiência da etapa de exposição do vapor.

Um suficiente tempo de residência é provido para assegurar adequado colapso/hidrólise da hemicelulose e ativação da fração de celulose.

A explosão de vapor da biomassa de sabugo de milho pré-tratadas é extraída sob pressão antes da saída do reator de pré-tratamento. Mínima água é usada como um eluente para remover hemicelulose solúvel em água e produtos de degradação de celulose como xilose, xilo-oligossacarídeos, furans, ácidos gordurosos, esteróis, éster, éteres e ácido acético.

Os inventores descobriram que a completa remoção dos compostos inibidores não é requerida nem desejada para alcançar o mais economicamente viável processo de pré-tratamento. Os inventores identificaram uma limitada variedade de condições de extração para a remoção dos compostos inibitórios nos quais a hemicelulose e hidrólise de hemicelulose e produtos de degradação e outros inibidores estão ainda presentes, mas reduzidos à um nível onde eles tem um efeito inibitório muito reduzido nas enzimas. Em adição, o fracionamento da biomassa ainda provê uma quantidade econômica de hemicelulose valiosa. A extração é alcançada com um inferior volume de eluente e nível de diluição tornando o processo com custo muito mais efetivo. Com efeito, o custo de extração é significativamente inferior que o valor da melhorada produção de etanol, inferior dosagens de enzima, e reduzidos tempo de processamento sendo alcançado. Quando combinado com a ideal temperatura do pré-tratamento, o tempo e purificação das impurezas, um processo econômico para converter sabugo de milho em açúcar fermentado é alcançado.

Em adição, as economias da produção de etanol de hemicelulose demandam a maximização do valor em todos fluxos de bio-produtos do processo. Como um exemplo, ácido acético poderá ser recuperado para venda como um produto químico industrial. A extração se refere em geral à um único ou múltiplos

processos de etapas para a remoção de partes líquidas das fibras com ou sem adição ou utilização de um eluente (a etapa de diluição). Tipicamente a extração é acentuada pelo uso de um dispositivo de compressão mecânica como um dispositivo rosqueado modular. O eluente poderá ser reciclado para aumentar a economia de seu uso ou usado por exemplo no processo conhecido de lavagem de contra corrente como um exemplo. Componente liquefeitos ma biomassa lignocelulósica tratada à vapor e os componentes dissolvidos sendo subsequëntemente removidos dos sólidos fibrosos. Geralmente isto remove a maior parte dos compostos dissolvidos, a água lavada, primariamente consistindo de hidrólise de hemicelulose e produtos de degradação que são inibitórios para hidrólise jusante e etapas de fermentação.

O sistema de extração em geral usa um dispositivo que emprega uma prensa mecânica ou outros meios para separar sólidos do líquido ou ar dos sólidos. Isto poderá ser acompanhado sob pressão como acima descrito e/ou sob pressão atmosférica acompanhada com vários tipos diferentes de máquinas que variam em detalhes os quais não são essências à esta invenção.

O fluxo de extrato contendo a fração de xilo-oligossacarídeo é coletado e concentrado à desejada aridez para adicionais aplicações. Uma final etapa de refinamento é requerida pra a produção de xilo-oligossacarídeos com um grau de pureza adequado para produtos farmacêuticos e aplicações agrícolas. Evaporação à vácuo poderá ser aplicada no sentido de aumentar a concentração e simultaneamente remover os compostos voláteis como ácido acético e sabores ou seus precursores. A extração do solvente, absorção e precipitação da troca de íon tem sido propostas por um técnico no assunto conhecedor do estado da técnica.

Um balanço deverá ser mantido entre a remoção dos componentes solúveis em água (fração de xilo-oligossacarídeo) e a necessidade de minimizar a quantidade de água de lavagem/eluente adicionada. Será desejável minimizar o uso de água, como a fração de xilo-oligossacarídeo deverá ser concentrada para seu eventual uso, que requer equipamento e energia, ambos dos quais devendo ser minimizado.

Nos novos processo, celulose ativada pressurizada é agitada em um ciclone para rapidamente liberar a pressão para assegurar uma descompressão

explosiva da biomassa pré-tratada em sólidos fibrosos e vapores. Isto abre as fibras para aumentar o acesso para as enzimas. Celulose purificada com um baixo nível de hemicelulose residual poderá ser enviada à hidrólise e estágios de fermentação.

5 Um novo modelo será também descrito para pré-tratamento de explosão de vapor contínuo de biomassa de baixa lignina ($< 12\%$) onde a recuperação da celulose e da hemicelulose é maximizada pela cuidadosa escolha do pH, temperatura, e tempo de retenção da etapa de exposição.

10 A biomassa será preferivelmente picada ou moída e pré-aquecida com vapor vivo em pressão atmosférica antes da etapa de pré-tratamento. O ar é removido da biomassa por prensagem. Extratos de inibição liquefeitos poderão ser removidos neste tempo. Ácido é adicionado, se requerido, para diminuir o pH à um desejado valor para catalisar o colapso/hidrólise da hemicelulose e ativar a fração da celulose durante a etapa de cozimento. Biomassa impregnada
15 prensada é então cozida com vapor em elevadas temperaturas e pressões por uma pré-selecionada quantidade de tempo.

Um suficiente tempo residual é provido para assegurar o adequado colapso/hidrólise da hemicelulose e ativação da fração de celulose. Durante a purificação do pré-tratamento do condensado e ventilação dos voláteis ocorrerá
20 continuamente.

A biomassa pré-tratada é extraída sob pressão antes de sair do reator de pré-tratamento ou após a saída ou ambos. Mínima água é usada como um eluente para remover hemicelulose emulsificada em água ou solúvel em água e hidrólise de celulose e produtos de degradação, como xilose, xilo-oligossacarídeos, furans, ácidos gordurosos, esteróis, éster, éteres, e ácido acético.
25

A extração se refere em geral à um único ou múltiplos processos de etapas de partes de líquido de remoção das fibras com ou sem adição ou utilização de um eluente, (a etapa de diluição). Tipicamente a extração é acentuada pelo uso de um dispositivo de compressão mecânica como um dispositivo rosqueado modular. O eluente poderá ser reciclado para aumentar a economia de seu uso
30 ou usado por exemplo em processo conhecido de lavagem contra corrente. Componentes emulsificados ou suspensos e solúveis na biomassa lignocelulósica tratada à vapor são removidos dos sólidos fibrosos. A

subseqüente eluente de água lavada, contendo produtos de hemicelulose que são inibitórios para hidrólise jusante e etapas de fermentação é enviado à uma etapa de recuperação.

O sistema de extração geralmente usa um dispositivo que emprega prensagem mecânica ou outros meio para separar sólidos do líquido. Isto poderá ser acompanhado sob pressão como descrito acima e/ou sob pressão atmosférica acompanhada de vários diferentes tipos de máquinas, os detalhes da quais não sendo essenciais à esta invenção.

O fluxo de extração contendo a fração de xilo-oligossacarídeo é coletado e concentrado à desejada aridez para adicionais aplicações. Uma final etapa de refinamento é requerida para a produção de xilo-oligassacarídeos com um grau de pureza adequado para produtos farmacêuticos, e alimentos e aplicações agrícolas. Evaporação à vácuo poderá ser aplicada no sentido de aumentar a concentração e simultaneamente remover os compostos voláteis como ácido acético e sabores ou seus precursores. A extração do solvente, absorção e precipitação da troca de íon tem sido propostas por técnicos no assunto, conhecedores do estado da técnica.

Um balanço deverá ser mantido entre a remoção dos componentes solúveis em água (fração de xilo-oligossacarídeo) e a necessidade de minimizar a quantidade da água de lavagem/eluente adicionada. Será desejável minimizar o uso de água, como a fração de xilo-oligossacarídeo deverá ser eventualmente concentrada.

No novo processo, celulose ativada pressurizada é agitadas em um ciclone pela rápida liberação da pressão para assegurar uma descompressão explosiva da biomassa pré-tratada em sólidos fibrosos e vaporosos. Isto abre as fibras pra aumentar o acesso para as enzimas. Celulose purificada com um baixo nível de hemicelulose residual poderá ser enviada para hidrólise e estágios de fermentação.

Outros objetivos e vantagens da invenção se tornarão aparentes após detalha descrição com relação aos desenhos em anexo, apresentados em caráter exemplificativo e não limitativo, nos quais:

- A Figura 1 mostra um digrama do processo na unidade de pré-tratamento contínuo proposto no exemplo;

- A Figura 2 mostra o total percentual de recuperação da celulose e hemicelulose produzidas durante o fracionamento do sabugo de milho;

- A Figura 3 ilustra a suscetibilidade da celulose de sabugo de milho pré-tratada à hidrólise enzimática, ou seja, conversão de celulose em glicose;

5 - A Figura 4 mostra os resultados da hidrólise e fermentação usando sabugo de milho pré-tratado produzido em escala piloto (2.5 toneladas métricas, 17% de consistência);

10 - A Figura 5 mostra um diagrama do processo do sistema de fracionamento da explosão de vapor contínuo usado para produzir celulose ativada e soluções livre de lignina ou oligossacarídeos utilizando a adição de ácido;

- A Figura 6 mostra o impacto na biomassa pré-tratada pH do ácido sulfúrico adicionado em conjunto com o ácido acético liberado do colapso da hemicelulose durante o pré-tratamento de explosão de vapor;

15 - A Figura 7 mostra o percentual total da recuperação da celulose e hemicelulose produzidas durante o fracionamento de alta pressão do sabugo de milho;

- A Figura 8 mostra o total percentual da recuperação da celulose e hemicelulose produzidas durante o fracionamento de baixa pressão do sabugo de milho;

- A Figura 9 mostra os resultados da hidrólise e fermentação usando sabugo de milho pré-tratado produzido em escala piloto e baixa pressão;

20 - A Figura 10 mostra o total percentual da recuperação de celulose e hemicelulose nas frações líquidas e sólidas produzidas no fracionamento do Miscanthus;

- A Figura 11 ilustra a suscetibilidade da celulose pré-tratada à partir de Miscanthus (Exemplo 3) para hidrólise enzimática (conversão de glicose em etanol);

25 - A Figura 12 mostra os tempos de conversão da celulose em vários níveis de digestão contra o índice de severidade da biomassa Miscanthus com 1.6% de ácido sulfúrico em um pH de 3.8.

30 Antes de explicar a presente invenção em detalhes, deverá ser entendido que a invenção não estará limitada às preferidas configurações contidas nela. A invenção é capacitada para ter outras configurações e sendo praticada ou realizada em uma variedade de maneiras. Deverá ser entendido que a fraseologia e terminologia empregadas aqui são para a finalidade de descrição e não de limitação.

As abreviações usadas na figuras tem o seguinte significado:

° C, temperatura em graus Celsius;

ms, milésimos de segundo;

DM, matéria seca;

5 SI. Índice de Severidade;

$T_{90\%}$. Tempo para atingir 90% da conversão máxima teórica a celulose em glicose.

Pré-Tratamento da Biomassa Lignocelulósica

10 Esta invenção é um novo processo para o fracionamento da biomassa lignocelulósica à partir de sabugo de milho em dois principais componentes, especificamente um fibra de sabugo de milho rica em celulose e uma solução rica em xilo-oligossacarídeos. O componente rico em celulose é valioso para muitas finalidades. Especificamente ele poderá ser mais facilmente hidrolisado em glicose que por sua vez poderá ser mais facilmente fermentado para etanol ou outros bio-combustíveis do que nos processos anteriores.

15 Um preferido aspecto da invenção é um processo contínuo para o pré-tratamento de sabugo de milho que gera celulose altamente reativa pré-hidrolisada com reduzido conteúdo de compostos que tem um efeito inibitório na hidrólise de celulose e fermentação da glicose.

20 Outro preferido aspecto da invenção é um processo para o pré-tratamento de sabugo de milho, para a geração de uma solução de xilo-oligossacarídeos livre de lignina com um raio de xilo-oligossacarídeo para ácido acético e compostos voláteis da degradação da hemicelulose superior a 4.

25 O preferido processo da invenção inclui as etapas de exposição do solo, biomassa de sabugo de milho pré-aquecida em vapor à 170°C à 220° C em 100 à 332 psig para 2 à 300 minutos sem o uso de catalisadores de ácido mineral. O pré-tratamento preferivelmente inclui a purificação contínua dos compostos líquido e volátil. A etapa de exposição preferivelmente trata o vapor da biomassa a uma temperatura e tempo retido para um Índice de Severidade de 3.8 à 4.1, o

30 Índice de Severidade sendo calculado de acordo com a equação:

Índice de Severidade = $\text{Log} \times \text{Exp} [(\text{Temperatura } ^\circ \text{C} - 100) / 14.75] \times \text{Tempo de Retenção (min.)}$.

A etapa de exposição mais preferivelmente tem um índice de severidade de 4.0.

Como mostrado na Figura 6 a exposição do sabugo de milho a um índice de severidade de 4.0 leva à um pH final de 3.5 à 4.0.

O processo ainda inclui a extração das fibras tratadas a vapor com/ou sem adição de eluente sob pressão para remover hemicelulose solúvel em água, ácidos e hemicelulose e produtos de degradação de hemicelulose. Como uma opção esses inibidores poderão ser extraídos após o pré-tratamento ou durante ou depois.

A extração da biomassa solúvel em água da fibra preferivelmente resulta em 4% a 10% de açúcares baseados em xilose consistindo de monômeros e oligossacarídeos remanescentes nas fibras pré-hidrolisadas.

As fibras extraídas, também referidas como pré-hidrolisadas, são separadas de produtos de reação gasosa em um ciclone separador, coletadas na parte inferior do separador, então picadas e diluídas à uma desejada consistência e subsequente transportadas à etapa de hidrólise enzimática.

O pré-hidrolisado é diluído com água em 10-30% de consistência e então reagido com enzimas celulase para produzir glicose. A solução rica em glicose é prontamente utilizada na subsequente etapa de fermentação onde um organismo converte a glicose em etanol.

EXEMPLO

No seguinte exemplo, referência numéricas referem-se à características do sistema de pré-tratamento e fluxos do processo, como mostrado na Figura 1;

O pré-tratamento de explosão de vapor contínuo do sabugo de milho é realizado em um sistema de pré-tratamento de explosão de vapor.

O sabugo de milho é recebido, armazenado, limpo, moído (tamanho de partícula de 0.5 à 1 cm³) e alimentado através de um funil e um trado rosqueado (não mostrado). A umidade do sabugo de milho é ajustada à 50% de DM.

O sabugo de milho preparado é pré-aquecido com vapor vivo em pressão atmosférica, em um silo de retenção ou pré-aquecido e condicionado em um recipiente à uma temperatura de aproximadamente 95° C por aproximadamente 10-60 minutos. Ar e vapor são ventilados através de um ventilador do recipiente de pré-aquecimento e condicionamento.

O sabugo de milho pré-aquecido é comprimido em um primeiro dispositivo rosqueado modular para remover ar através de um ventilador e extrair os

inibitórios 5. O sabugo de milho é então alimentado em tubo de fluxo ascendente pressurizado 70.

O vapor saturado pressurizado à uma temperatura de 205° C é injetado acima do e/ou no tubo de fluxo ascendente 70 por direta injeção 60 e/ou indireta injeção de vapor 61 em uma seção revestida do tubo de fluxo ascendente até a desejada pressão de cozimento ser alcançada.

O sabugo de milho é movido através do tubo de fluxo ascendente com o auxílio de um condutor/misturador rosqueado (3 min.) e sendo descarregado em um reator de pré-tratamento 80.

O sabugo de milho é continuamente descarregado do reator de pré-tratamento 80 à um segundo dispositivo rosqueado modular 100 após um tempo de residência de 5 minutos à 205° C no reator de pré-tratamento 80.

Durante o tempo de residência, os líquidos cozidos e condensados coletados no fundo do reator de pré-tratamento são purificados através de uma válvula de controle de descarga purificada 95.

O sabugo pré-tratado é lavado com eluente água sob pressão do pré-tratamento. Água quente 90 é adicionada para diluir o sabugo de milho pré-tratado quando a fibra for descarregada do reator de pré-tratamento. Além disso água quente é também adicionada ao longo do dispositivo de prensa 100 para atingir um raio de aproximadamente 6:1 eluente de água lavada para o sabugo de milho e alcançar uma maior extração da hemicelulose. A solução de hemicelulose extraída 110 é coletada e concentrada à uma desejada aridez para adicionais aplicações.

O sabugo de milho lavado pressurizado é agitado em um ciclone 120. Os sólidos, ou seja, a celulose purificada, coletada no fundo do ciclone separador sendo sujeita ainda à adicional processamento, ou seja, picada e então diluída com água fresca para a desejada consistência para hidrólise e fermentação.

Os componentes gasosos são coletados, condensados 130 e alimentados em um tanque condensado. Qualquer emissão da pistola de vapor, do ciclone separador e de outras partes da instalação são coletadas e tratadas em uma unidade de controle ambiental (não mostrada). Gases limpos são exaustados na atmosfera da unidade de controle ambiental.

No sentido de simular este novo processo, o pré-tratamento de explosão de vapor do sabugo de milho foi seguido pela lavagem do lote em escala piloto com 97% de recuperação da celulose (Figura 2).

A celulose extraída do pré-tratamento em escala piloto foi altamente suscetível à hidrólise enzimática. 80% da conversão máxima teórica da celulose em glicose foi alcançada em 60 horas. 90% da conversão com 17% de consistência da pasta fluída foi alcançada em 95 horas, usando somente 0.23% de carga do produto de celulases comerciais (Figura 3).

Na Figura 3, a linha tracejada representa a tendência de onze experimentos de hidrólise enzimática realizada em três diferentes escalas (ou seja, 1 kg, 300 kg e 2500 kg). Esses experimentos de hidrólise enzimática foram realizados com 17% de consistência, 50° C e pH de 5.0. O ajuste químico do pH usado foi amônia aquosa (30%). Enzima lignocelulósica comercialmente viável foi usada em uma carga de 0.23% de peso/peso na recebida colheita da matéria prima.

Amostras de sabugo de milho continuamente pré-tratados foram hidrolisados e fermentados em um lote de 2.5 toneladas métricas no processo de hidrólise e fermentação (Figura 4). Os resultados foram de acordo com a inferior escala piloto e resultados em escala laboratorial (Figura 3). Uma concentração de 100 g/L de glicose foi alcançada em $t_{90\%}$, ou seja, em 100 horas de hidrólise com 17% de consistência na pasta fluída, usando somente 0.23% da carga do produto celulase comercial.

A fermentação da celulose hidrolisada foi alta. Uma concentração de 4.9% de álcool foi alcançada em 20 horas (Figura 4).

Na Figura 4, a hidrólise foi realizada à 50° C, pH de 5.0 e 0.5% de carga enzimática. A fermentação foi realizada à 33° C, pH de 5.3, usando levedura fermentada de grade industrial-C6. A hidrólise, fermentação e ajuste do pH foram realizados usando amônia aquosa (30%). Círculos cinza indicam a concentração de glicose. Quadrados pretos indicam a concentração de etanol.

A produção de xilo-oligossacarídeos solúveis foi equivalente à 12% do peso do sabugo de milho bruto processado em escala piloto. 63% do conteúdo original da hemicelulose de sabugo de milho foi convertido em produtos de degradação volátil (Figura 2). 66% desses voláteis foram agitados durante a etapa de descompressão explosiva.

81% da hemicelulose remanescente no sabugo de milho pré-hidrolisado após a auto-hidrólise foi coletada através da etapa de lavagem de água pré-hidrolisada. A resultante solução livre de lignina contida nos sólidos dissolvidos dos quais 87% eram açúcares, incluindo 63% de xilo-oligossacarídeos (w/w) em uma base de matéria seca.

Pré-tratamento da Biomassa Hemicelulíca com Baixa Lignina

Esta invenção é um novo processo para fracionamento da biomassa lignocelulósica com baixa lignina de diferentes fontes em dois principais componentes, especificamente celulose e xilo-oligossacarídeos. O componente da celulose purificada é valioso para várias finalidades. Especificamente ele poderá ser então mais facilmente hidrolisado em glicose que por sua vez poderá ser mais facilmente fermentado para etanol ou outros bio-combustíveis do que nos processos anteriores.

Um aspecto preferido da invenção é um processo para o pré-tratamento de matérias primas com baixo conteúdo de lignina para gerar celulose altamente reativa pré-hidrolisada com um reduzido conteúdo de compostos que tenham efeito inibitório na hidrólise da celulose e fermentação da glicose como a hidrólise da hemicelulose e produtos de degradação.

Outro preferido aspecto da invenção é um processo para o tratamento de biomassa com baixa lignina, para gerar solução de xilo-oligossacarídeos livre de lignina com um raio de xilo-oligossacarídeo para ácido acético e compostos voláteis da degradação de hemicelulose superiores à 4.

Na Figura 6, diamantes cinzas e a linha tracejada mostram que suficiente ácido acético foi liberado à partir de resíduos agrícolas, ou seja, da hemicelulose do sabugo de milho para assegurar um valor de pH de 3.8 durante a etapa de cozimento, e assim, não havendo necessidade para a adição de catalisadores minerais. Os quadrados pretos e a linha plana mostram que 1.6% por peso DM do ácido sulfúrico tinha que ser adicionado à uma colheita energética, ou seja, biomassa de *Miscanthus*, assegurar um valor de pH de 3.8 durante o pré-tratamento de explosão de vapor. Como poderá ser visto na Figura 6, a adição de 0% de ácido sulfúrico com a biomassa de sabugo de milho e 1.6% de ácido sulfúrico à biomassa de *Miscanthus* estão ambos entre um nível de pH de 3.5-4.0.

O processo preferido da invenção (Figura 5) inclui as seguintes etapas:

Etapa 1 Preparação da Alimentação

A biomassa com baixa lignina 10 é recebida, armazenada, limpa e moída (tamanho de partícula de 0.5 à 1 cm³) através de um funil em forma de V e um trado rosqueado (não mostrado).

A umidade da biomassa é ajustada à uma desejada faixa de 30-60% neste estágio.

Etapa 3 Pré-aquecimento

A biomassa preparada é pré-aquecida com vapor vivo 20 na pressão atmosférica, em um silo de retenção 30 à uma temperatura de aproximadamente 95°C por 10 à 60 minutos.

Ar e vapor são ventilados 35 do silo.

Etapa 3 Aquecimento de Adição de Catalisador (es)

A biomassa pré-aquecida pe comprimida em um dispositivo rosqueado modular 40 para remover ar 50 de extratos inibitórios liquefeitos e excesso de água e então alimentada em um tubo de fluxo ascendente 70.

O tubo é medido para prover um tempo de retenção de 3 a 15 minutos.

O conteúdo da matéria seca da biomassa varia de 30% à 60% antes da adição do vapor e do catalisador.

A biomassa á ainda aquecida jusante do tubo de fluxo ascendente 70 a uma temperatura de pré-tratamento de 170° C à 220° C por injeção de vapor direto 60 ou por vapor indireto 61 em uma seção revestida do tubo de fluxo ascendente.

Ácidos minerais ou gases ácidos 65 são misturados com a biomassa em uma quantidade de até 4% para obter o desejado valor do pré-tratamento do pH que atinge pH de 1.0 à pH de 5.0; preferivelmente pH 3.0 à pH 4.0, para catalisar a remoção da hemicelulose e ativar a celulose. O pH é medido após a deseja exposição ser alcançada.

A adição de ácido 65 é feita através de um conjunto de um ou mais bocais após o dispositivo rosqueado e/ou ao longo do comprimento do tubo de fluxo ascendente.

A biomassa tratada se move através do tubo de fluxo ascendente com o auxílio do misturador/condutor rosqueado e sendo descarregado no reator de pré-tratamento 80.

Etapa 4 Pré-Tratamento

A biomassa acidificada e pré-aquecida é descarregada do tubo de fluxo ascendente 70 no reator de pré-tratamento 80. O reator de pré-tratamento é medido para permitir um tempo de residência de 5 à 70 minutos. A biomassa de baixa lignina é preferivelmente mantida em uma temperatura alvo para alcançar um Índice de Severidade de 3.5 à 4.0, o Índice de Severidade sendo calculado de acordo com a equação:

Índice de Severidade = $\text{Log} \times \text{Exp} [(\text{Temperatura } ^\circ\text{C} - 100) / 14.75) \times \text{Tempo de Retenção (min.)}$.

Mais preferivelmente o Índice de Severidade será de 3.6.

Etapa 5 Lavagem/Prensagem

A biomassa pressurizada, ainda na pressão do reator de pré-tratamento é diluída com água eluente de lavagem 90 quando ela sai do reator de pré-tratamento e a água com os compostos solubilizados e suspensos sendo prensada da biomassa quando ela passar através do dispositivo rosqueado modular 100, ainda sob pressão. Adicional água eluente quente poderá ainda ser adicionada ao longo do dispositivo de prensa para alcançar uma maior extração da hidrólise da hemicelulose solúvel e dos produtos de degradação e catalisador ácido.

A temperatura da água de lavagem poderá variar.

Neste estágio de lavagem a maior parte da fração de hemicelulose 110 é removida. A eficiência da remoção da hemicelulose poderá variar de 50% à 90% ou mais. O sistema de lavagem de água em geral usa um dispositivo que emprega prensagem e outros meios para separar sólidos dos líquidos. Isto poderá ser acompanhado com vários diferentes tipos de máquinas, que são bem conhecidas por um técnico no assunto, conhecedor do estado da técnica e não necessitando serem descritas em detalhes. Um balanço deverá ser mantido entre a remoção dos componentes da água solúvel (fração de xilo-oligossacarídeo) e a necessidade de minimizar a quantidade da água eluente de lavagem adicionada. Será desejável minimizar o uso de água, como a fração de xilo-oligossacarídeo deverá ser concentrada para seu eventual uso. Será preferido para alcançar um final conteúdo de xilose do pré-hidrolisado de 4% à 10%, a xilose estando presente como xilo-oligossacarídeos e xilose.

Uma final etapa de refinamento para a produção de xilo-oligossacarídeos puros com uma grau de pureza adequado para fermentação, bio-combustíveis, produtos farmacêuticos, alimentos e ração e aplicação agrícola. Evaporação à vácuo (não mostrada) poderá ser aplicada no sentido de aumentar a concentração e simultaneamente remover compostos voláteis e catalisadores ácidos como furans, ácido acético, ácido sulfúrico ou dióxido de enxofre.

Extração de solvente, absorção e precipitação na troca de íon são propostas pelo estado da técnica. Catalisadores ácidos e água lavada são reciclados e reusados no processo de pré-tratamento.

Etapa 6 Recuperação da Celulose Purificada

Celulose lavada pressurizada com um baixo nível de hemicelulose é agitada em um ciclone 120. A fração de sólidos, ou sejam a celulose purificada, coletada no fundo do ciclone separador poderá ser enviada aos estágios de hidrólise e fermentação.

Componentes gasosos são coletados, condensados 130 e alimentados na estação condensada (não mostrada). Toda emissão gasosa dos recipientes, do ciclone separador e outras partes das instalações são coletadas e tratadas em uma unidade de controle ambiental (não mostrada). Gases limpos são exaustados na atmosfera à partir da unidade.

EXEMPLO 1 – Pré-Tratamento à Alta Pressão do Sabugo de Milho

O pré-tratamento de explosão do vapor do sabugo de milho foi realizado em um sistema de explosão de vapor pressurizado com vapor saturado à uma temperatura de 205° C. Nenhum ácido foi adicionado ao sabugo de milho durante a etapa de aquecimento. O total tempo de retenção do pré-tratamento do sabugo de milho será de 8 minutos, ou seja, 3 minutos em um tubo de fluxo ascendente, 5 minutos em um reator de pré-tratamento em pH 3.8. A acidificação do sabugo de milho resultado da liberação do ácido acético do colapso da hemicelulose.

O sabugo de milho pré-tratado foi lavado com água.

A extração da celulose do sabugo de milho foi realizada em escala piloto com um percentual de recuperação de 92% (Figura 7).

59% da celulose vinda foi recuperada após o pré-tratamento à alta pressão do sabugo de milho. 52% da vinda hemicelulose foi coletada na solução de xilo-

oligossacarídeos (Figura 7). A resultante solução livre de lignina contendo 89% de açúcares, incluindo 66% de xilo-oligossacarídeos (w/w) em uma base de matéria seca.

EXEMPLO 2 – Pré-Tratamento à Baixa Pressão do Sabugo de Milho

O pré-tratamento de explosão de vapor do sabugo de milho foi realizado em um sistema de pré-tratamento de explosão de vapor pressurizado com vapor saturado à uma temperatura de 170° C. Nenhum ácido foi adicionado ao sabugo de milho durante a etapa de aquecimento. Todo o tempo de retenção do pré-tratamento do sabugo de milho foi de 85 minutos, ou seja, 15 minutos em um tubo de fluxo ascendente, 70 minutos em um reator de pré-tratamento em pH 3.8. A acidificação do sabugo de milho resultada da liberação do ácido acético do colapso da hemicelulose.

O sabugo de milho pré-tratado foi lavado com água.

A extração de celulose do sabugo de milho foi realizada em escala piloto com um percentual de recuperação de 92% (Figura 8).

51% da vinda hemicelulose foi recuperada após o pré-tratamento à baixa pressão do sabugo de milho. 43% da vinda hemicelulose foi coletada na solução de xilo-oligossacarídeos (Figura 8). A resultante solução livre de lignina contendo 88% de açúcares, incluindo 65% de xilo-oligossacarídeos (w/w) em uma base de matéria seca.

Após a descompressão explosiva, a fração sólida do pré-tratamento à baixa pressão, ou seja, da celulose purificada foi coletada no fundo do ciclone separador, picada e então diluída com água fresca com até 17% de consistência. A celulose extraída do pré-tratamento em escala piloto contínuo com baixa e alta pressão do sabugo de milho foi altamente suscetível à hidrólise enzimática. A digestão do celulose pré-tratada à alta e baixa pressão foi similar⁵ (Figura 3). 80% da conversão da celulose teórica máxima em glicose foi alcançada em 60 horas. 90% da conversão com 17% de consistência da pasta fluída foi alcançada em 95 horas, usando somente 0.23% de carga do produto celulase comercial (Figura 3).

Na Figura 3, a linha tracejada representa a tendência de seis experimentos duplicados de hidrólises enzimáticas realizadas em três diferentes escalas (ou seja, 1 kg, 300 kg, 2500 kg) com celulose extraída com alta ou baixa pressão. Os

experimentos de hidrólise enzimática foram realizados com 17% de consistência, 50° C e pH 5.0. O ajuste químico do pH usado foi amônia aquosa (30%). Enzima lignocelulósica viável comercialmente foi usada em uma carga de 0.23% de peso/peso (w/w) na chegada colheita da matéria prima.

- 5 Na escala piloto (2.5 toneladas métricas de hidrólise de lote alimentado e processo de fermentação, Figura 9), uma concentração de 100 g/L de glicose representando 91% da conversão em glicose foi alcançada após 100 horas de hidrólise com 17% de consistência da pasta fluída com tratamento de baixa pressão.
- 10 Na Figura 9, a hidrólise foi realizada à 50° C, pH 5.0 e 0.5% de carga de enzima. A fermentação foi realizada à 33° C, pH de 5.3 usando uma levedura de grade de fermentação-C6 industrial. O ajuste da hidrólise e da fermentação foi realizado usando amônia aquosa (30%). Círculos cinzas indicam a concentração de glicose. Quadrados pretos indicam a concentração de etanol.
- 15 A fermentação da celulose hidrolisada foi avaliada pela adição de suficiente levedura de grade de industrial C6 para atingir uma concentração de 10% de células de levedura por grama hidrolisada à 33° C, pH 5.3, quando 90% da conversão máxima teórica da celulose em glicose foi alcançada. O ajuste do pH foi realizada com amônia aquosa (30%) antes da adição da levedura.
- 20 A fermentação da celulose hidrolisada foi alta. Uma concentração de 4.9% de álcool foi alcançada em 20 horas (Figura 10).

EXEMPLO 3 – Pré-Tratamento à Baixa Pressão do Miscanthus

O pré-tratamento de explosão de vapor do Miscanthus foi realizado em um sistema pressurizado com vapor saturado à uma temperatura de 170° C.

As fibras de Miscanthus foram impregnadas com ácido sulfúrico na quantidade de 1.6% por peso DM durante a etapa de aquecimento. O total tempo de retenção do pré-tratamento de Miscanthus foi de 30 minutos com pH 3.8.

O Miscanthus pré-tratado com lavado com água.

- 30 A extração da celulose do Miscanthus foi realizada em uma escala piloto com um percentual de recuperação na fração sólida de 95% (Figura 10).
45% da vinda hemicelulose foi recuperada após o pré-tratamento do Miscanthus.
40% da vinda hemicelulose foi coletada na solução de xilo-oligossacarídeos

(Figura 10). A resultante solução livre de lignina contendo 85% de açúcares, incluindo 62% de xilo-oligossacarídeos (w/w) em uma base de matéria seca.

A celulose extraída do pré-tratamento em escala piloto de *Miscanthus* foi altamente suscetível à hidrólise enzimática. 80% da conversão máxima teórica da celulose em glicose foi alcançada em 73 horas. 90% da conversão com 17% de consistência da pasta fluída foi alcançada em 105 horas, usando 1% de carga de celulase comercial (Figura 11).

Na Figura 11, a hidrólise foi realizada á 50° C, pH 5.0, usando produto de enzima lignocelulótica viável comercialmente, à uma carga de 1.0% de peso/peso na chegada colheita da matéria prima. A fermentação foi realizada à 33° C, pH 5.3 usando uma levedura de grade industrial de fermentação C6.

Uma concentração de 88 g/L de glicose representando 90% da conversão da celulose foi alcançada após 100 horas de hidrólise com 17% de consistência da pasta fluída.

A fermentação da celulose hidrolisada foi avaliada pela adição de suficiente levedura de grade industrial C6 para atingir uma concentração de 10% de células de levedura por grama hidrolisada à 33° C, pH 5.3.

O tempo necessário para atingir 90% da conversão máxima teórica da celulose em glicose foi determinado. O ajuste do pH foi realizado com amônia aquosa (30%) antes da adição da levedura.

A fermentação da celulose hidrolisada foi alta. Uma concentração de 4.1% de álcool foi alcançada em 30 horas (Figura 9).

A Figura 12 mostra as os tempos de conversão em vários níveis de digestão contra o Índice de Severidade. Em particular, a Figura 12 mostra a quantidade de tempo para a digestão da enzima de 70%, 80% e 90% da celulose para biomassa *Miscanthus* que foi aquecida com vapor com 1.6% de ácido sulfúrico para alcanlar um pH de 3.8, que o mesmo pH do pré-hidrolisado da biomassa do sabugo de milho com 0% de ácido sulfúrico como mostrado na Figura 6. No exemplo mostrado na Figura 12, o *Miscanthus* foi aquecido com vapor em vários Índices de Severidade, com mostrado na Figura 12, o ideal Índice de Severidade sendo de aproximadamente 3.6 que resulta na conversão enzimática da celulose em menos quantidade de tempo.

Os inventores descobriram que o ideal Índice de Severidade usado para o *miscanthus* não ocorreu como esperado. O pré-tratamento do sabugo de milho

libera suficiente ácido acético para auto-hidrólise em um Índice de Severidade de 4.0 com pH de aproximadamente 3.8 e provê o melhor tempo de hidrólise enzimática. Se as mesmas condições do processo de temperatura, pressão, pH, e tempo forem duplicadas para o Miscanthus, simplesmente pelo processo para 5 atingir o mesmo pH, isto levará à significante inferior digestão da celulose. Este resultado foi inesperado e sendo bem ilustrado na Figura 12 que claramente indica que o ideal Índice de Severidade para a mais baixa digestão da celulose enzimática do miscanthus em aproximadamente pH 3.8 (1.6% de ácido sulfúrico) seria de 3.6. Assim, como foi primeiramente imaginado processando Miscanthus, 10 uma biomassa com baixa lignina e baixa acetila, no mesmo pH do sabugo de milho propriamente não seria suficiente como pré-tratamento que deva ser ajustado para condições mais suaves. Será esperado que, para outras matérias primas que requeiram menos ácido que o Miscanthus, mas que ainda requeiram adicional ácido para alcançar o mesmo pH, o Índice de Severidade ideal deverá 15 atingir entre 3.6 à 4.0 como essas outras matérias primas que se aproximam do sabugo de milho que atuam melhor com um Índice de Severidade de 4.0.

Referências (pré-tratamento da biomassa de baixa lignocelulósica)

References (pretreatment of low lignocellulosic biomass)

(1) Shapouri H et al. (1995) USDA Report 721. Estimating the net energy balance of corn ethanol. (2) Shapouri H et al. (2002) USDA Report 813. The Energy 20 Balance of corn ethanol: an update.

(3) Chow J et al. (2003) Science, 302, 1528-1531 Energy resources and global development.

(4) Wald ML, Barrionuevo A (2007) New York Times, April 7th, The Energy 25 challenge: A Renewed push for ethanol, without the corn.

(5) Greig D (2008) Biocycle, 49, 11-47. Commercializing cellulosic ethanol.

(6) Hill J et al. (2006) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103, 11206-11210. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and 30 ethanol biofuels.

(7) Farrell AE et al. (2006) Science, 311, 506-508. Ethanol can contribute to energy and environmental goals.

(8) Somerville C (2007) Current biology, 17, 115-119. Biofuels.

(9) Schuetzle D et al. (2007) Western Governors' Association. Alcohol fuels from biomass-Assessment of production technologies.

(10) Chum L, Overend R (2002) Fuel Processing technology, 71 , 187-195. Biomass and renewable fuels.

5 (11) Wyman CE (1996) Taylor & Francis: Washington DC, USA, Handbook on bioethanol: production and utilization.

(12) Delmer DP, Amor Y (1995) Plant Cell, 7, 987-1000. Cellulose biosynthesis.

10 (13) Morohoshi N (1991) In Wood and cellulosic chemistry; Hon, D. N. S, Shiraishi, N., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, USA, Chemical characterization of wood and its components.

(14) Ha MA et al. (1998) Plant J. 1998, 16, 183-190. Fine structure in cellulose microfibrils: NMR evidence from onion and quince.

15 (15) Palmqvist E, Hahn-Hagerdal B (2000) Bioresource Technol., 74, 25-33. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: Inhibitors and mechanisms of inhibition.

(16) De Vrije T et al (2002) International journal of hydrogen energy, 27, 1381-1390. Pretreatment of miscanthus for hydrogen production by thermotoga elfii.

(17) Galbe M, Zacchi G (2002) Appl Microbiol Biotechnol 59 618-628. A review of the production of ethanol from softwood.

20 (18) Torget R et al. (1991) Bioresource Technol., 35, 239-246. Dilute sulfuric acid pretreatment of hardwood bark.

(19) Donghai S et al. (2006) Chinese J. Chem. Eng., 14, 796-801. Effects of different pretreatment modes on the enzymatic digestibility of corn leaf and corn stalk.

25 (20) Renewable Fuels for advanced Powertrains-Final report (2008) www.renew-fuel.com/download.php?dl=renew-final-report-080627.pdf&kat=5

(21) Bullard M, Metcalfe P (2001) Crown publisher ETSU B/U1/00645/REP DTI/Pub URN 01/797. Estimating the energy requirement and CO2 emission from production of the perennial grasses miscanthus, switchgears and reed canary grass.

30 (22) Newman R (2003) Crown publisher ETSU B/W2/00618/REP-URN 03/1568. Miscanthus- Practical aspects of biofuel development.

(23) Christian DG, Haase E (2001). Agronomy of Miscanthus. In M. B. Jones & M. Walsh, Miscanthus for energy and fibre. London: James and James.

(24) Planting and Growing Miscanthus (2007) Department for Environment, Food and Rural Affairs (Defra) <http://www.defra.gov.uk/erdp/pdfs/ecs/miscanthus-guide.pdf>

(25) Papatheofanous MG et al. (1995) Biomass and Bioenergy, 8, 419-426. Biorefining of agricultural crops and residues: effect of pilot-plant fractionation on properties of fibrous fractions.

(26) Lange W (1992) Holzforschung, 46, 277-282. Extracts of miscanthus grass (*Miscanthus sinensis* Anderss.). A comparison of the 'summer-green' and the 'winter-dry' plant.

(27) Sims, R (2003) Elsevier Science: London, UK, Biomass and resources bioenergy options for a cleaner environment in developed and developing countries.

(28) Sjöström, E (1993) Academic Press: San Diego, USA, Wood chemistry: fundamentals and applications.

(29) Price L et al. (2004) Biomass and Bioenergy, 3-13. Identifying the yield potential of *Miscanthus x giganteus*: an assessment of the spatial and temporal variability of *M. x giganteus* biomass productivity across England and Wales.

(30) Velasquez JA et al. (2003) Wood Science and Technology, 37, 269-278. Binderless fiberboards from steam exploded *Miscanthus sinensis*.

(31) Lewandowski I et al. (2003) Agronomy J, 95, 1274-1280. Environment and harvest time affects the combustion qualities of *Miscanthus* genotypes.

(32) Kurakake M et al (2001) Applied biochemistry and Biotechnology, 90, 251-259. Pretreatment with ammonia water for enzymatic hydrolysis of corn husk, bagasse, and switchgrass.

(33) Lewandowski I et al. (2003) Biomass and Bioenergy, 25, 335-361. Development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe.

(34) Sun Y, Cheng J (2002) Bioresources Technol., 83, 1-11. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production :A review.

(35) McMillan JD (1994) In Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production; Himmel, M. E., Baker, J.O., Overend, R. P., Eds.; ACS: Washington DC, USA, 1994; pp. 292-324. Pretreatment of lignocellulosic biomass.

(36) Fan L et al (1982) Adv. Biochem. Eng. Biotechnol., 23, 158-183. The nature of lignocellulosics and their pretreatments for enzymatic hydrolysis.

(37) Mosier N et al. (2005) *Bioresources Technol*, 96, 673-686. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass.

(38) Henley RG et al. (1980) *Enzyme Microb. Tech.*, 2, 206-208. Enzymatic saccharification of cellulose in membrane reactors.

5 (39) Berlin A et al. (2006) *J. Biotechnol.*, 125, 198-209. Inhibition of cellulase, xylanase and beta-glucosidase activities by softwood lignin preparations.

(40) Chandra R et al. (2007) *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol*, 108, 67-93. Substrate pretreatment: The key to effective enzymatic hydrolysis of
10 lignocellulosics?

(41) Kassim EA, El-Shahed AS (1986) *Agr. Wastes*, 17, 229-233. Enzymatic and chemical hydrolysis of certain cellulosic materials.

(42) Xu Z et al (2007) *Biomass Bioenerg.* 2007, 31 , 162-167. Enzymatic hydrolysis of pretreated soybean straw.

15 (43) Vaccarino C et al (1987) *Biol. Waste*, 20, 79-88. Effect of SO₂NaOH and Na₂CO₃ pretreatments on the degradability and cellulase digestibility of grape marc.

(44) Silverstein RA et al (2007) *Bioresource Technol.*, 2007, 98, 3000-3011. A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of
20 cotton stalks.

(45) Zhao X et al (2007) *Bioresource Technol.*, 99, 3729-3736. Comparative study on chemical pretreatment methods for improving enzymatic digestibility of crofton weed stem.

(46) Gaspar M et al (2007) *Process Biochem.*, 2007, 42, 1135-1139. Corn fiber
25 as a raw material for hemicellulose and ethanol production.

(47) Saha BC, Cotta MA (2006) *Biotechnol. Progr.*, 22, 449-453. Ethanol production from alkaline peroxide pretreated enzymatically saccharified wheat straw.

(48) Saha BC, Cotta MA (2007) *Enzyme Microb. Tech.*, 41, 528-532. Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated
30 rice hulls to ethanol.

(49) Mishima D et al (2006) *Bioresource Technol.* 2006, 97, 2166-2172. Comparative study on chemical pretreatments to accelerate enzymatic hydrolysis of aquatic macrophyte biomass used in water purification processes.

- (50) Sun XF et al (2005) *Carbohydr. Res.*, 340, 97-106. Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw.
- (51) Alizadeh H et al (2005) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 124, 1 133-41.
- 5 Pretreatment of switchgrass by ammonia fiber explosion (AFEX).
- (52) Chundawat SP et al (2007) *Biotechnol. Bioeng.*, 96, 219-231. Effect of particle size based separation of milled corn stover on AFEX pretreatment and enzymatic digestibility.
- (53) Eggeman T, Elander RT. (2005) *Bioresource Technol.*, 96, 2019-2025.
- 10 Process and economic analysis of pretreatment technologies.
- (54) Chum HL (1985) Solar Energy Research Institute: Golden, Colorado, 1-64. Evaluation of pretreatments of biomass for enzymatic hydrolysis of cellulose.
- (55) Taherzadeh MJ, Karimi K (2007) *Bioresources*, 2, 472-499. Process for ethanol from lignocellulosic materials I: Acid-based hydrolysis processes.
- 15 (56) Ruiz E et al (2008) *Enzyme Microb. Tech.*, 42, 160-166. Evaluation of steam explosion pretreatment for enzymatic hydrolysis of sunflower stalks.
- (57) Ballesteros M et al. (2004) *Process Biochem.*, 39, 1843-1848. Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875.
- 20 (58) Negro MJ et al (2003) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 105, 87-100. Hydrothermal pretreatment conditions to enhance ethanol production from poplar biomass.
- (59) Kurabi A et al (2005) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 121-124. Enzymatic
- 25 hydrolysis of steam exploded and ethanol organosolv-pretreated Douglas-fir by novel and commercial fungal cellulases.
- (60) Varga E et al (2004) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 509-523. Optimization of steam pretreatment of corn stover to enhance enzymatic digestibility.
- (61) Eklund R (1995) *Bioresource Technol.*, 52, 225-229. The influence of SO₂
- 30 and H₂SO₄ impregnation of willow prior to steam pretreatment. (62) Yang B, Wyman CE (2004) *Biotechnol. Bioeng.*, 86, 88-95. Effect of xylan and lignin removal by batch and flowthrough pretreatment on the enzymatic digestibility of corn stover cellulose.

(63) Eggeman T, Elander RT. (2005) *Bioresource Technol.*, 96, 2019-2025. Process and economic analysis of pretreatment technologies.

(64) Girio FMF (1997) FAIR-CT97-381 1. Development of xylooligosaccharides and xylitol for use in pharmaceutical and food industries (Xylophone)

5 (65) Izumi et al (2002) US patent application #2002195213 A1. Process for producing xylooligosaccharide from lignocellulose pulp., 16pp

(66) Yu S et al (2002) Faming Zhuanli Shengqing Gongkai Shuomingshu, CN 136491 1 A, 7pp Preparation of xylooligosaccharide by degradation of plant fiber with enzyme.

10 (67) Kabel MA et al (2002) *Carbohydrate Polymers*, 50, 47-56. Hydrothermally treated xylan rich by-products yield different classes of xylo-oligosaccharides.

(68) Werpy T, Petersen G (2004) DOE - Top Value Added Chemicals from Biomass -Volume I: Results of screening for potential candidates from sugars and synthesis gas <http://www1.eere.energy.gov/biomass/pdfs/35523.pdf>

15 (69) Carvalho F et al (2008) *Journal of Scientific & Industrial Research*, 67, 849-864. Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments

(70) Ebringerova A (2006) *Macromolecular Symposia*, 232, 1-12. Structural diversity and application potential of hemicelluloses.

20 References (Pretreatment of corncobs)

Shapouri H et al. (1995) USDA Report 721. Estimating the net energy balance of corn ethanol. Shapouri H et al. (2002) USDA Report 813. The Energy Balance of corn ethanol: an update.

25 Chow J et al.(2003) *Science*, 302, 1528-1531 Energy resources and global development.

Wald ML, Barrionuevo A (2007) *New York Times*, April 7th, The Energy challenge: A Renewed push for ethanol, without the corn.

30 Gregg D (2008) *Biocycle*, 49, 11-47. Commercializing cellulosic ethanol. Hill J et al. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 1 1206-1 1210. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels.

Farrell AE et al. (2006) *Science*, 31 1 , 506-508. Ethanol can contribute to energy and environmental goals.

Somerville C (2007) *Current biology*, 17, 1 15-1 19. Biofuels. Schuetzle D et al. (2007) Western Governors' Association. Alcohol fuels from biomass-Assessment of production technologies.

Chum L, Overend R (2002) *Fuel Processing technology*, 71 , 187-195. Biomass and renewable fuels.

Wyman CE (1996) Taylor & Francis: Washington DC, USA, Handbook on bioethanol: production and utilization.

Delmer DP, Amor Y (1995) *Plant Cell*, 7, 987-1000. Cellulose biosynthesis.

Morohoshi N (1991) In *Wood and cellulosic chemistry*; Hon, D. N. S, Shiraishi, N., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, USA, Chemical characterization of wood and its components.

Ha MA et al. (1998) *Plant J.* 1998, 16, 183-190. Fine structure in cellulose microfibrils: NMR evidence from onion and quince.

Palmqvist E, Hahn-Hagerdal B (2000) *Bioresource Technol.*, 74, 25-33. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: Inhibitors and mechanisms of inhibition.

De Vrije T et al (2002) *International journal of hydrogen energy*, 27, 1381-1390. Pretreatment of miscanthus for hydrogen production by *thermotoga elfii*.

Galbe M, Zacchi G (2002) *Appl Microbiol Biotechnol* 59 618-628. A review of the production of ethanol from softwood. Torget R et al. (1991) *Bioresource Technol.*, 35, 239-246. Dilute sulfuric acid pretreatment of hardwood bark.

Donghai S et al. (2006) *Chinese J. Chem. Eng.*, 14, 796-801. Effects of different pretreatment modes on the enzymatic digestibility of corn leaf and corn stalk.

Sun Y, Cheng J (2002) *Bioresources Technol.*, 83, 1-1 1. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production :A review.

McMillan JD (1994) In *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*; Himmel, M. E., Baker, J.O., Overend, R. P., Eds.; ACS: Washington DC, USA, 1994; pp. 292-324. Pretreatment of lignocellulosic biomass.

Fan L et al (1982) *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 23, 158-183. The nature of lignocellulosics and their pretreatments for enzymatic hydrolysis.

Mosier N et al. (2005) *Bioresources Technol*, 96, 673-686. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass.

Henley RG et al. (1980) *Enzyme Microb. Tech.*, 2, 206-208. Enzymatic saccharification of cellulose in membrane reactors. Berlin A et al. (2006) *J.*

Biotechnol., 125, 198-209. Inhibition of cellulase, xylanase and beta-glucosidase activities by softwood lignin preparations.

Chandra R et al. (2007) Adv. Biochem. Eng. Biotechnol, 108, 67-93. Substrate pretreatment: The key to effective enzymatic hydrolysis of lignocellulosics?

5 Kassim EA, El-Shahed AS (1986) Agr. Wastes, 17, 229-233. Enzymatic and chemical hydrolysis of certain cellulosic materials.

Xu Z et al (2007) Biomass Bioenerg. 2007, 31 , 162-167. Enzymatic hydrolysis of pretreated soybean straw.

10 Vaccarino C et al (1987) Biol. Waste, 20, 79-88. Effect of SO₂NaOH and Na₂CO₃ pretreatments on the degradability and cellulase digestibility of grape marc. Silverstein RA et al (2007) Bioresource Technol., 2007, 98, 3000-301 1.A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks.

15 Zhao X et al (2007) Bioresource Technol., 99, 3729-3736. Comparative study on chemical pretreatment methods for improving enzymatic digestibility of crofton weed stem.

Gaspar M et al (2007) Process Biochem., 2007, 42, 1 135-1 139. Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production.

20 Saha BC, Cotta MA (2006) Biotechnol. Progr., 22, 449-453. Ethanol production from alkaline peroxide pretreated enzymatically saccharified wheat straw. Saha BC, Cotta MA (2007) Enzyme Microb. Tech., 41 , 528-532. Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated rice hulls to ethanol.

25 Mishima D et al (2006) Bioresource Technol. 2006, 97, 2166-2172. Comparative study on chemical pretreatments to accelerate enzymatic hydrolysis of aquatic macrophyte biomass used in water purification processes. Sun XF et al (2005) Carbohydr. Res., 340, 97-106. Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw.

30 Alizadeh H et al (2005) Appl. Biochem. Biotechnol., 124, 1 133-41. Pretreatment of switchgrass by ammonia fiber explosion (AFEX).

Chundawat SP et al (2007) Biotechnol. Bioeng., 96, 219-231. Effect of particle size based separation of milled corn stover on AFEX pretreatment and enzymatic digestibility.

Eggeman T, Elander RT. (2005) *Bioresource Technol.*, 96, 2019-2025. Process and economic analysis of pretreatment technologies.

Chum HL (1985) Solar Energy Research Institute: Golden, Colorado, 1-64. Evaluation of pretreatments of biomass for enzymatic hydrolysis of cellulose.

5 Taherzadeh MJ, Karimi K (2007) *Bioresources*, 2, 472-499. Process for ethanol from lignocellulosic materials I: Acid-based hydrolysis processes.

Ruiz E et al (2008) *Enzyme Microb. Tech.*, 42, 160-166. Evaluation of steam explosion pretreatment for enzymatic hydrolysis of sunflower stalks.

10 Ballesteros M et al. (2004) *Process Biochem.*, 39, 1843-1848. Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875.

Negro MJ et al (2003) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 105, 87-100. Hydrothermal pretreatment conditions to enhance ethanol production from poplar biomass.

15 Kurabi A et al (2005) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 121-124. Enzymatic hydrolysis of steam exploded and ethanol organosolv-pretreated Douglas-fir by novel and commercial fungal cellulases.

Varga E et al (2004) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 509-523. Optimization of steam pretreatment of corn stover to enhance enzymatic digestibility.

20 Eklund R (1995) *Bioresource Technol.*, 52, 225-229. The influence of SO₂ and H₂SO₄ impregnation of willow prior to steam pretreatment.

Yang B, Wyman CE (2004) *Biotechnol. Bioeng.*, 86, 88-95. Effect of xylan and lignin removal by batch and flowthrough pretreatment on the enzymatic digestibility of corn stover cellulose.

25 Eggeman T, Elander RT. (2005) *Bioresource Technol.*, 96, 2019-2025. Process and economic analysis of pretreatment technologies.

Vazquez M, et al (2006) *Industrial Crops and Products*, 24, 152-159. Enhancing the potential of oligosaccharides from corncob autohydrolysis as prebiotic food ingredients

30 Moura P, et al (2007) *LWT*, 40, 963-972. *In vitro* fermentation of xylooligosaccharides from corncobs autohydrolysis by *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains

REIVINDICAÇÕES

1. **"PROCESSO CONTÍNUO PARA FRACIONAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA"**, tendo um baixo conteúdo de lignina inferior à 12%,

5 caracterizado por compreender as etapas de exposição de biomassa lignocelulósica ao vapor em um recipiente de reação à uma pré-selecionada temperatura e uma pré-selecionada pressão de reação, para uma pré-selecionada exposição de tempo, e à um selecionado valor de pH para a remoção da fração da hemicelulose da biomassa lignocelulósica e ativando uma
10 fração da celulose da biomassa lignocelulósica para obter uma biomassa lignocelulósica pré-hidrolisada; purificação do líquido condensado e do vapor gerado durante a etapa de exposição para remover e coletar um primeiro fluxo de líquido com compostos de água solúvel e um primeiro fluxo de vapor em produtos químicos voláteis; extração do líquido contendo hidrólise da
15 hemicelulose e componentes de degradação da biomassa lignocelulósica pré-hidrolisada como um fluxo de degradação da hemicelulose; liberação rápida da pressão da reação após a etapa de extração para propiciar descompressão explosiva da biomassa lignocelulósica pré-hidrolisada em sólidos fibrosos, vapor e condensado; e coleta do vapor e condensado da descompressão explosiva
20 para separação e recuperação de bio-produtos.

2. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o(s) catalisador(es) ácido (s) ser adicionado durante a etapa de exposição.

3. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por a biomassa lignocelulósica ser selecionada do grupo consistindo de miscanthus,
25 gramínea perene (switchgrass), sabugo de milho, palha de sorgo, palha de milho e palha de trigo.

4. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por a biomassa lignocelulósica ser miscanthus.

5. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por o pré-tratamento de vapor ser realizado à uma temperatura de 170° C à 205° C.
30

6. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por o pré-tratamento de vapor ser realizado por menos de minutos em um valor de pH de 3.0 à 4.0.

7. "PROCESSO", de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por o pré-tratamento de vapor ser realizado por menos que 90 minutos em um valor de pH de 3.5 à 3.9.

8. "PROCESSO", de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o valor do pH ser ajustado usando produto(s) químico(s) de ajuste ou catalisadores ácido.

9. "PROCESSO", de acordo com a reivindicação 8, caracterizado por o catalisador ácido ser todo ou em parte ácido acético liberado do colapso da fração de hemicelulose da biomassa lignocelulósica.

10. "PROCESSO", de acordo com a reivindicação 8, caracterizado por o(s) produto(s) químico(s) de ajuste ou catalisador (es) ácido (s) incluírem ácidos minerais ou gases ácidos misturados com a biomassa em uma quantidade de até 4%.

11. "PROCESSO", de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por o índice de severidade de 3.5 à 4.0 ser mantido durante a etapa de exposição, o índice de severidade sendo calculado de acordo com a equação: Índice de Severidade = $\text{Log} \times \text{Exp} \{(\text{Temperatura } ^\circ\text{C} - 100)/14.75\} \times \text{Tempo de Retenção (min.)}$.

12. "PROCESSO", de acordo com a reivindicação 11, caracterizado por o índice de severidade ser mantido em 3.6.

13. "PROCESSO", de acordo com a reivindicação 11, caracterizado por a etapa de exposição ser realizada na temperatura de reação de 170° C, na pressão de reação de 100 psig, e por o tempo de intervalo de 25-85 minutos.

14. "PROCESSO", de acordo com a reivindicação 11, caracterizado por a etapa de exposição ser realizada na temperatura de reação de 170° C, na pressão de reação de 100 psig, e por o tempo de intervalo de 34.5 minutos.

15. "PROCESSO", de acordo com a reivindicação 11, caracterizado por o Índice de Severidade ser de aproximadamente 3.6 e o pH após o tempo de retenção ser de 3.0 à 4.0.

16. "PROCESSO", de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o Índice de Severidade de 3.8 à 4.1 ser mantido durante a etapa de exposição, o índice de severidade sendo calculado de acordo com a equação: Índice de

Severidade = $\text{Log} \times \text{Exp} \{(\text{Temperatura } ^\circ\text{C} - 100)/14.75 \times \text{Tempo de Retenção (min.)}\}.$

17. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado por o Índice de Severidade ser mantido em 4.0.

5 18. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 17, caracterizado por o pH após o tempo de retenção ser de 3.0 à 4.0.

19. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 17, caracterizado por a etapa de exposição ser realizada na temperatura de reação de 205° C, na pressão de reação de 235 psig, e por o tempo de intervalo de 8 minutos.

10 20. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 17, caracterizado por a etapa de exposição ser realizada na pré-selecionada temperatura de reação de 170° C, a pré-selecionada pressão de reação de 100 psig, e por o pré-selecionado tempo de exposição de 85 minutos.

15 21. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 17, caracterizado por a etapa de exposição ser controlada para atingir um pH de 3.0 à 4.0 no final do pré-selecionado tempo de exposição.

22. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 17, caracterizado por a biomassa lignocelulósica tem um conteúdo de acetila selecionado para atingir um pH de 3.5 à 4.0 no final do pré-selecionado tempo de exposição.

20 23. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 21, caracterizado por a biomassa lignocelulósica ser sabugo de milho.

25 24. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a biomassa lignocelulósica ser selecionada do grupo consistindo de sabugo de milho, bagaço de cana, gramínea perente (switchgrass), bagaço de sorgo, palha de milho e palha de trigo.

25. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o processo ser realizado em um sistema de exposição do pré-tratamento e compostos voláteis que são removidos continuamente pela ventilação do sistema de exposição do pré-tratamento.

30 26. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o processo ser realizado em um sistema de exposição do pré-tratamento e a purificação do condensado líquido ocorrer continuamente nos pontos de purificação do sistema de exposição do pré-tratamento.

27. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os produtos de degradação solubilizada da hemicelulose criados na etapa de exposição serem extraídos e removidos da biomassa lignocelulósica pré-tratada sob pressão antes da descompressão explosiva.

5 28. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 26, caracterizado por um eluente ser adicionado à biomassa lignocelulósica pré-tratada antes da etapa de extração e removendo a hemicelulose sob pressão.

10 29. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 26, caracterizado por o processo ser realizado em uma unidade de pré-tratamento tendo um reator de pré-tratamento com uma saída conectada ao dispositivo de separação do sólido-líquido e por água lavada ser adicionada na parte inferior do reator de pré-tratamento e/ou ao longo do dispositivo de separação do sólido-líquido para alcançar uma superior extração de uma fração de hemicelulose solúvel da biomassa lignocelulósica.

15 30. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os subprodutos solubilizados da degradação da hemicelulose criados na etapa de exposição serem extraídos e removidos da parte sólida antes e depois da descompressão explosiva, com ou sem a adição de um eluente.

20 31. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os subprodutos solubilizados da degradação da hemicelulose criados na etapa de exposição serem extraídos e removidos da biomassa lignocelulósica pré-tratada com ou sem a adição de um eluente para produzir uma celulose sólida rica em fibra contendo de 4% à 10% de conteúdo de xilose e xilose oligossacarídeos.

25 32. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os subprodutos solubilizados da degradação de hemicelulose criados na etapa de exposição do pré-tratamento serem extraídos e removidos da biomassa lignocelulósica pré-tratada com ou sem a adição de um eluente para produzir uma celulose sólida rica em fibra contendo de 6% +/-1% de conteúdo de xilose e xilose oligossacarídeos.

30 33. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a remoção da hemicelulose degradada e hidrolisada e dos produtos de degradação da celulose na fase líquida ser acentuada pelo uso de um dispositivo de compressão mecânica selecionado do grupo consistindo de um MSD, um

dreno de rosca, um filtro prensa, uma prensa correia, e um filtro para separar as fibras líquidas das sólidas para atingir um alvo de 6%+/-1% de xilose e xilose oligossacarídeos.

34. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os sólidos fibrosos pré-tratados serem extraídos com água como eluente, e a água elunente com hidrólise de hemicelulose e componentes de degradação sendo subsequente separados para a produção de uma xilose ou xilose oligossacarídeos livre d lignina ou hemicelulose incluindo outros produtos químicos que inibam a hidrólise enzimática.

35. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os sólidos fibrosos extraídos do líquido por processamento mecânico selecionado do grupo consistindo de filtragem por compressão, centrífuga e a combinação das mesmas.

36. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a biomassa lignocelulósica ser lavada contra corrente com água eluente para acentuar a hidrólise da hemicelulose e a extração da degradação.

37. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a água como eluente ser derivada de fluxos reciclados do processo, ou de água eluente reciclada.

38. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a hidrólise da hemicelulose e as frações do produto de degradação no fluxo de degradação da hemicelulose serem coletadas por propósitos de valores adicionados.

39. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o ácido acético no fluxo de purificação do vapor ser reciclado de volta à etapa de exposição para acentuar a hidrólise e degradação da hemicelulose.

40. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o ácido acético no primeiro fluxo de vapor ser coletado para propósitos de valor adicionado.

41. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o ácido acético no primeiro fluxo de vapor e no fluxo de degradação da hemicelulose ser coletado para propósitos de valor adicionado.

42. **"PROCESSO"**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por furfural ser produzido na etapa de exposição, o furfural ser condensado à partir do fluxo

de purificação de vapor e outros fluxos e ser coletado para propósitos de valor adicionado.

- 5 43. “**PROCESSO**”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a biomassa lignocelulósica ser pré-vaporizada antes da etapa de exposição com vapor por 10 à 60 minutos à uma temperatura de até 99 graus Celsius para remover ar e ajustar um conteúdo de umidade da biomassa lignocelulósica entre 30 e 60%.

Figura 1

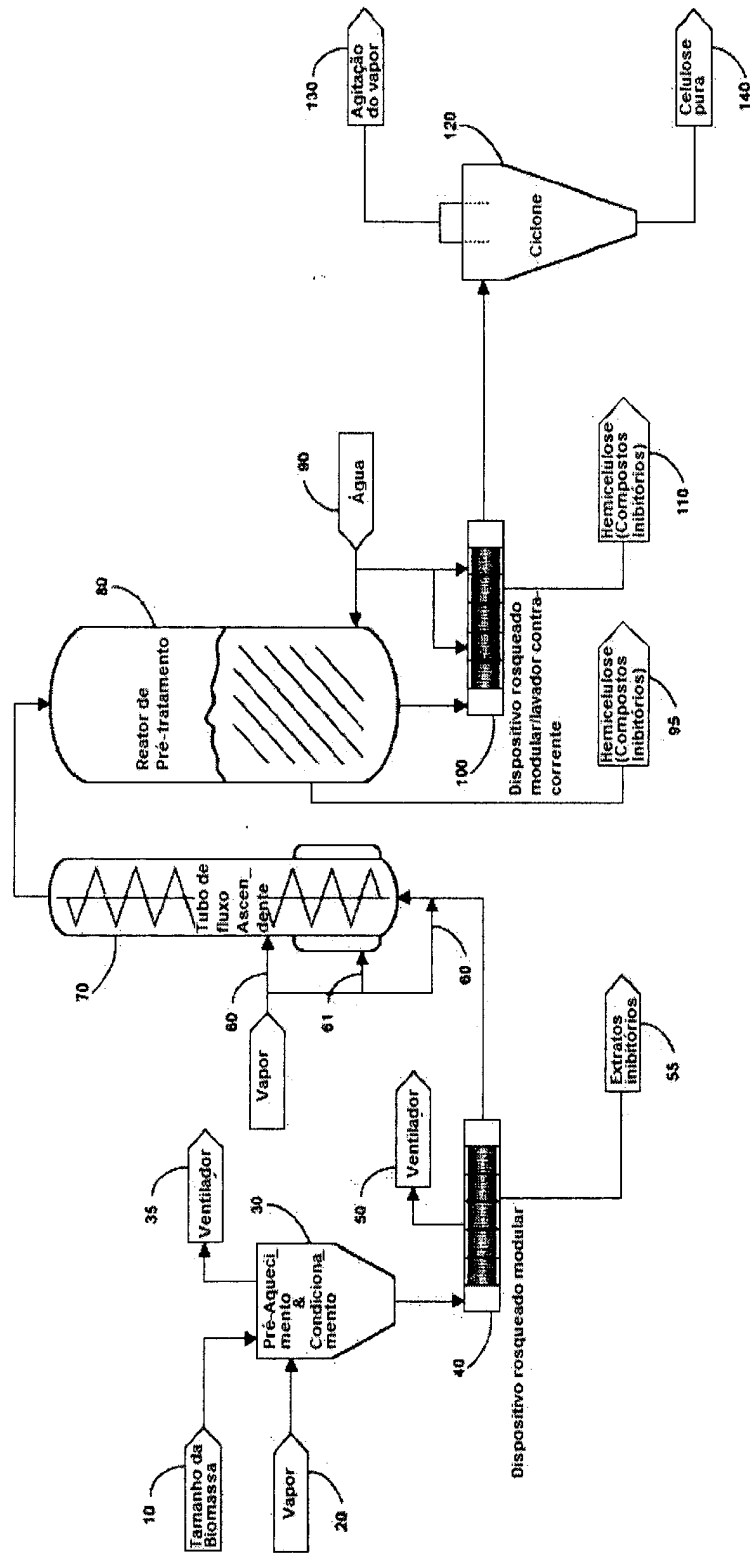


Figura 2

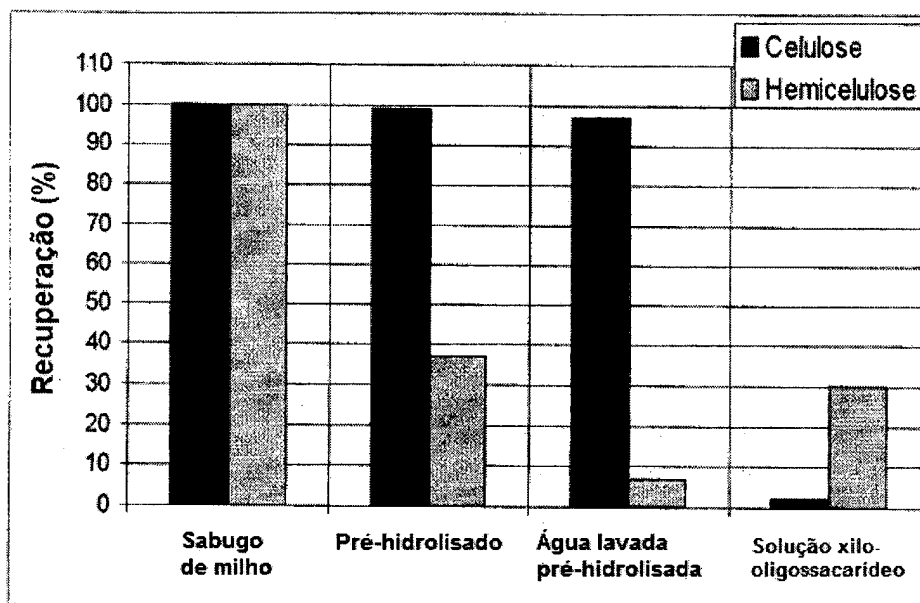


Figura 3

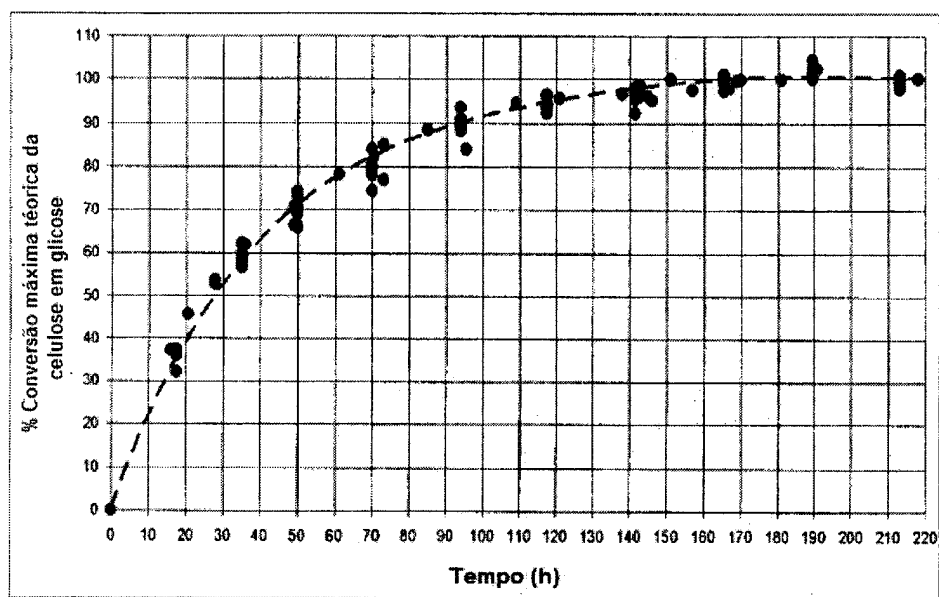


Figura 4

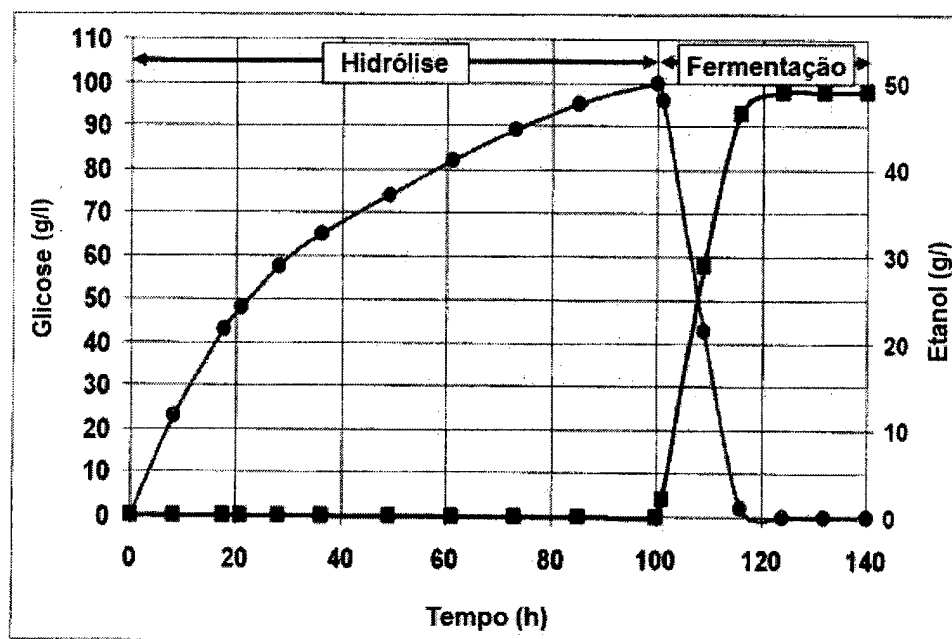


Figura 5

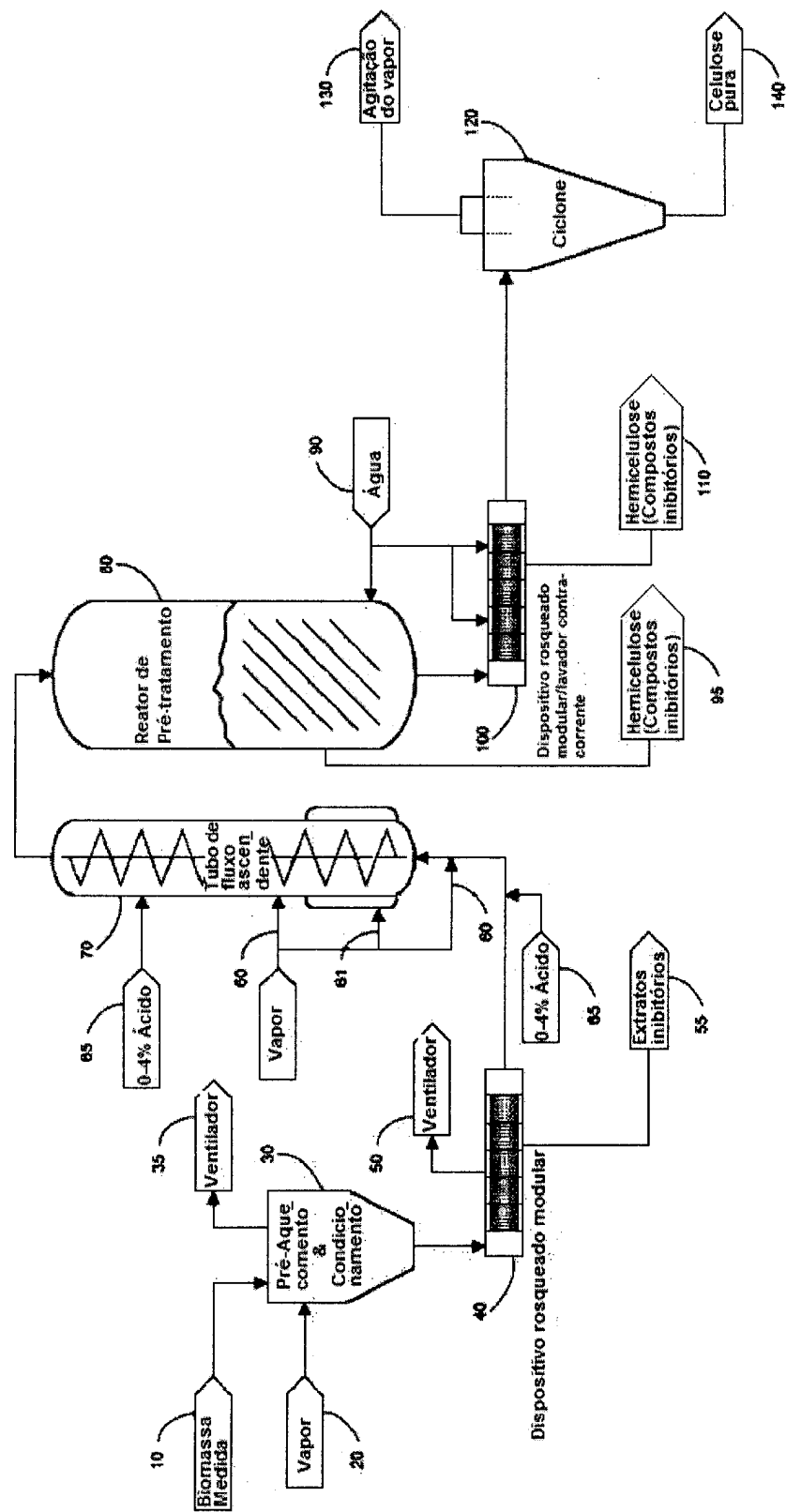


Figura 6

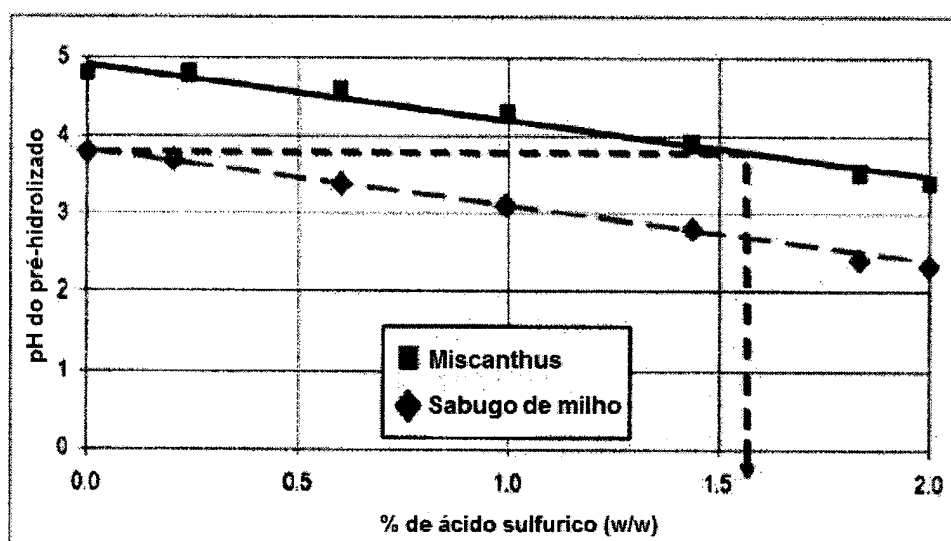


Figura 7

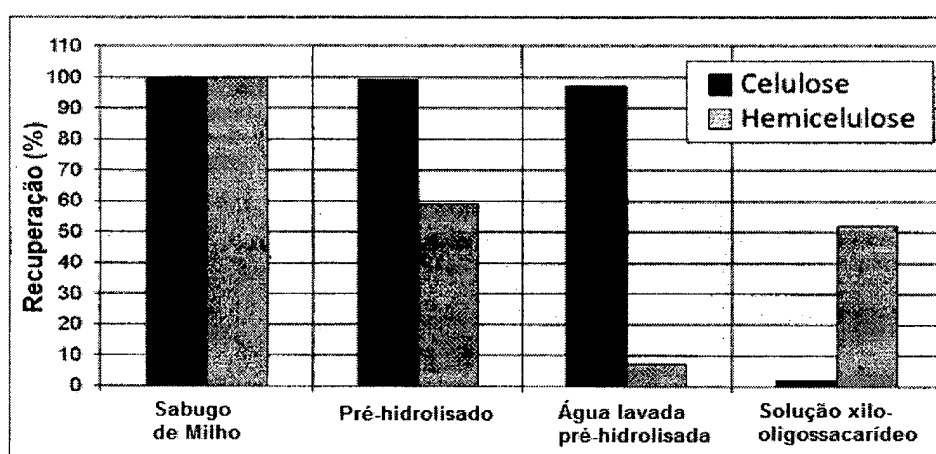


Figura 8

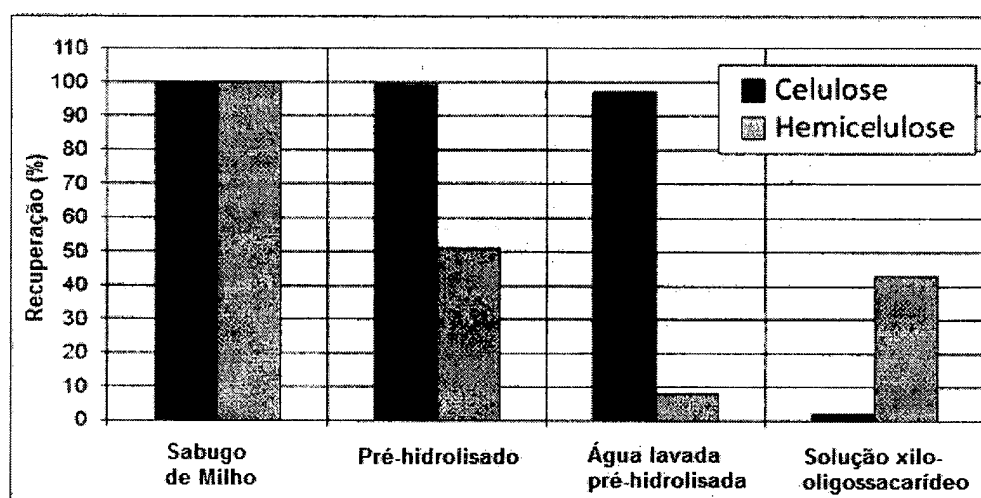


Figura 9

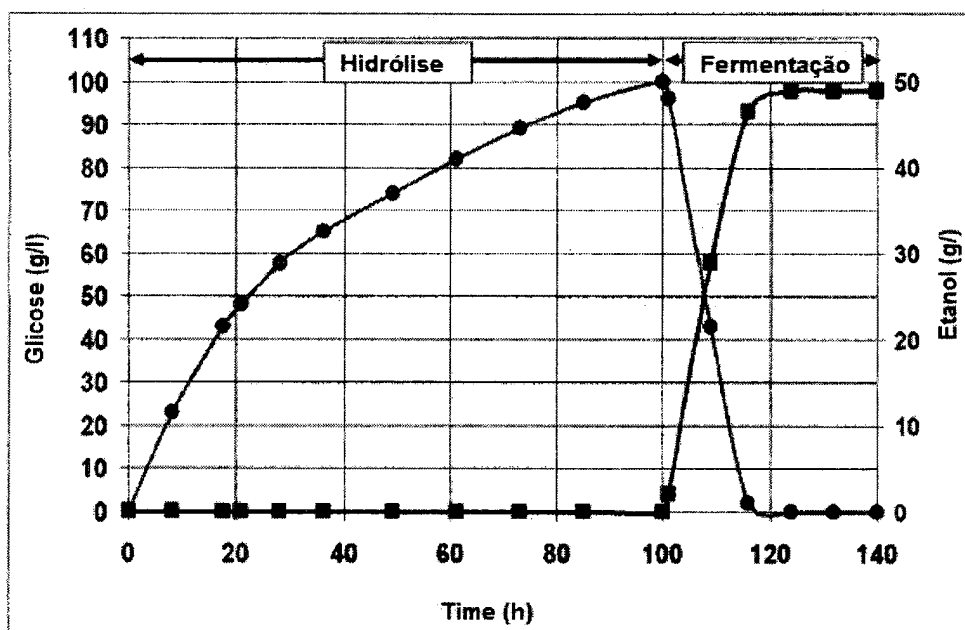


Figura 10

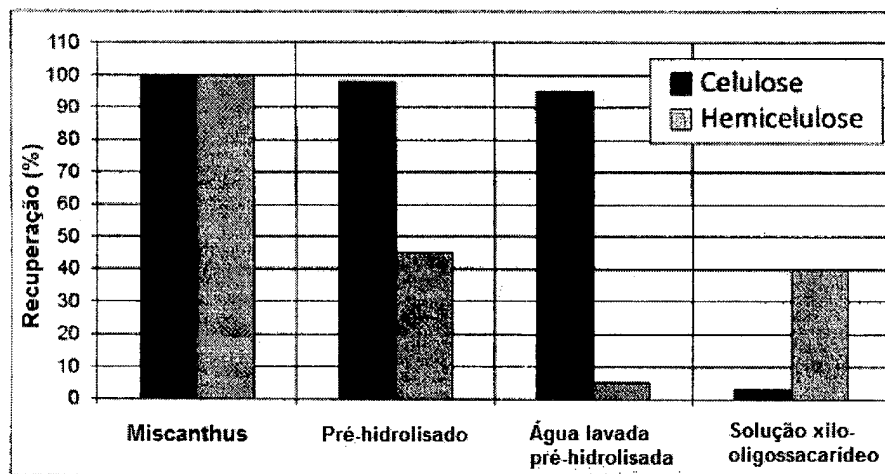


Figura 11

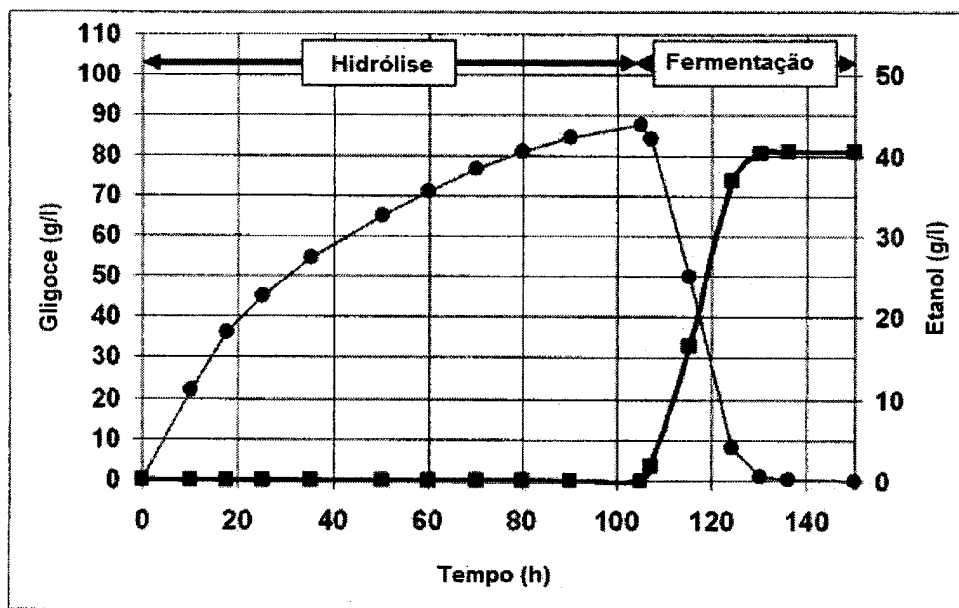
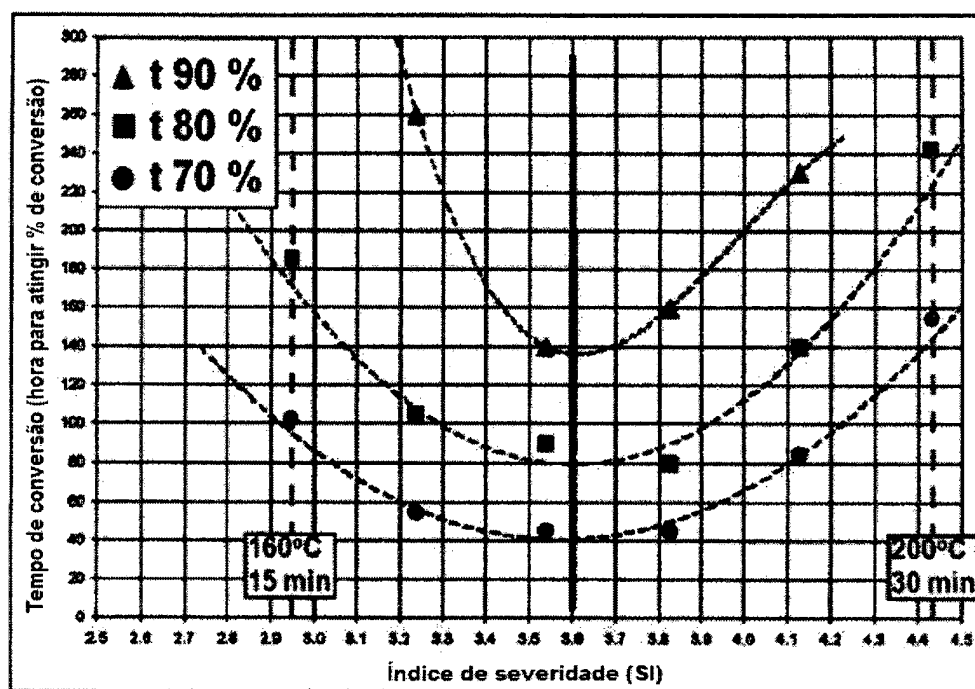


Figura 12



RESUMO**“PROCESSO CONTÍNUO PARA FRACIONAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA PARA ETANOL CELULÓSICO E PRODUÇÃO QUÍMICA”**

5 Um processo é definido para o pré-tratamento de vapor contínuo e fracionamento de sabugos de milho e biomassa de baixa lignina celulósica para produzir um fluxo de sólida celulose concentrada composta de hidrólise e produtos de degradação da hemicelulose. Glicose derivada celulósica é produzida por fermentação à bio-combustíveis. Um concentrado de hemicelulose é recuperado de modo que possa ser convertido em produtos de valor

10 adicionado incluindo etanol.