



Assinado
Digitalmente

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº PI 0906026-0

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: PI 0906026-0

(22) Data do Depósito: 27/02/2009

(43) Data da Publicação do Pedido: 11/09/2009

(51) Classificação Internacional: C12P 7/08; C12P 7/56; C12P 19/02; C12P 19/14.

(30) Prioridade Unionista: JP 2008-054472 de 05/03/2008.

(54) Título: MÉTODO PARA REMOVER INIBIDORES DE FERMENTAÇÃO DE UMA BIOMASSA A BASE DE POLISSACARÍDEOS

(73) Titular: TORAY INDUSTRIES, INC., Empresa Japonesa. Endereço: 1-1, NIHONBASHI-MUROMACHI 2-CHOME, CHUO-KU, TOKYO, JP 103-8666, JAPÃO(JP)

(72) Inventor: HIROYUKI KURIHARA; SHINICHI MINEGISHI; MASAYUKI HANAKAWA.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 27/02/2009, observadas as condições legais

Expedida em: 04/12/2018

Assinado digitalmente por:
Liane Elizabeth Caldeira Lage
Diretora de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

“MÉTODO PARA REMOVER INIBIDORES DE FERMENTAÇÃO DE UMA BIOMASSA A BASE DE POLISSACARÍDEOS”

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção refere-se a um método altamente eficiente para a produção de um composto proveniente de uma biomassa a base de polissacarídeo. O método inclui o fornecimento de um tratamento para remoção de um inibidor da fermentação com o uso de uma membrana de separação na etapa anterior à etapa de sacarificação e/ou na etapa anterior à etapa de fermentação, em pelo menos uma das seguintes etapas, isto é, uma etapa para a produção de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose pelo uso de uma biomassa a base de polissacarídeo como matéria prima, e uma etapa para a conversão do monossacarídeo e/ou oligossacarídeo obtido por este método em um produto químico por meio da fermentação.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[002] O século XX, que é conhecido como a era do consumo e do descarte em massa chegou ao fim, e no século XXI, em que o estabelecimento de uma sociedade ambientalmente amigável é exigido, no momento em que o problema de esgotamento dos recursos fósseis e o problema do aquecimento global estão se tornando mais graves, a promoção da utilização de recursos a partir de biomassa, que são recursos recicláveis, encontra-se sob expectativa.

[003] Atualmente, entre os recursos de biomassa, a produção de bioetanol utilizando a cana-de-açúcar ou o açúcar de milho como matéria-prima está em progresso ativo nos Estados Unidos, Brasil dentre outros. Isso ocorre porque a cana ou o milho contém um rico conteúdo de sacarose ou amido, e, por conseguinte, é fácil a preparação de uma solução de açúcar a partir destas pela fermentação. No entanto, a cana-de-açúcar e o milho são originalmente gêneros alimentícios, e quando estes são utilizados como material de partida existe um

grave problema em que ocorre uma competição entre o uso destes produtos como material de partida ou como comestíveis ou matérias-primas alimentícias, provocando um aumento no preço da matéria-prima. Desse modo, o desenvolvimento de uma tecnologia para usar uma biomassa não comestível como material de partida está em andamento.

[004] Exemplo de biomassa não comestível inclui a celulose, que está presente mais abundantemente na Terra, e a maioria da celulose existe sob a forma de uma biomassa a base de polissacarídeo, a qual é um complexo de celulose com lignina ou uma hemicelulose, que é um polímero aromático. A tecnologia de produção de um monossacarídeo ou oligossacarídeo de uma pentose ou hexose a partir da celulose ou hemicelulose em uma biomassa a base de polissacarídeo, fermentando o monossacarídeo ou oligossacarídeo obtido, e convertendo o produto da fermentação de vários compostos proveniente a partir da biomassa a base de polissacarídeo, tais como o etanol ou ácido láctico, está atraindo a atenção pública. Entretanto, conforme descrito no documento não Patentário Nº 1, a biomassa a base de polissacarídeo é uma construção complexa de celulose, hemicelulose e lignina, e a celulose ou hemicelulose são protegidas pela lignina ao serem submetidas à biodegradação, de modo que as relações de composição variam em um intervalo muito amplo, dependendo das condições regionais e sazonais e dos materiais de partida. Por esta razão, não é fácil escolher a seletivamente apenas um monossacarídeo ou um oligossacarídeo de uma pentose ou hexose.

[005] As investigações até agora têm sido feitas em um método de pré-tratamento de destruição ou amolecimento das paredes de lignina protetoras pelo tratamento da biomassa baseada em polissacarídeo usando um ácido, um álcali, uma enzima, água subcrítica (água supercrítica) ou similares, e recuperar um líquido ou sólido contendo um monossacarídeo ou um oligossacarídeo de uma pentose ou hexose. Por exemplo, uma vez

que um tratamento à base de água subcrítica (água supercrítica) tem um tempo de curto e não necessita de um ácido mineral ou similar, ou seja, não requer um tratamento de neutralização, tal tratamento é vantajoso a partir de um aspecto ambiental, de modo que produtos secundários, tal como o emplastro não é gerado. Desse modo, esse tratamento está atraindo a atenção como um método de tratamento da próxima geração do tipo ambientalmente consciente. No entanto, conforme descrito no Pedido de Patente 1, uma vez que a água subcrítica (água supercrítica) é altamente reativa, há dificuldades no controle da reatividade, e vários inibidores da fermentação, tais como furfural e 5-hidroximetilfurfural, que são produtos excessivamente degradantes de açúcares, bem como vanilina e guaiacol, que são compostos aromáticos derivados da lignina, também são gerados ao mesmo tempo, de modo que o produto de tratamento não pode ser usado diretamente na etapa de fermentação. Além disso, de acordo com as condições de pré-tratamento, a concentração dos monossacarídeos ou oligossacarídeos obtidos de uma pentose ou hexose pode ser baixa, e neste caso, torna-se necessário realizar a concentração simples do monossacarídeo ou oligossacarídeo em cerca de algumas vezes a até dez vezes antes de fornecer o monossacarídeo ou oligossacarídeo para o processo de fermentação. Neste momento, enquanto o monossacarídeo ou oligossacarídeo de uma pentose ou hexose é concentrado, os inibidores da fermentação também são ao mesmo tempo concentrados, de modo que se torna difícil utilizar o concentrado no processo de fermentação.

[006] Com relação a esses problemas, investigações estão sendo feitas sobre a remoção dos inibidores de fermentação. Por exemplo, o Documento não Patentário 2 descreve um método de remoção de um inibidor de fermentação através da adsorção em carbono ativado. Entretanto, este método possui um problema que, uma vez que o carvão

ativado adsorve não só os inibidores de fermentação, mas também monossacarídeos ou oligossacarídeos de pentoses ou hexoses, de modo que o rendimento dos monossacarídeos ou oligossacarídeos de pentoses ou hexoses é diminuído.

[007] O Pedido de Patente 1 revela um método de remoção de inibidores de fermentação através da adsorção em carbono a base de madeira e, neste método, uma vez que os inibidores de fermentação podem ser adsorvidos seletivamente e removidos, um monossacarídeo ou oligossacarídeo de uma pentose ou hexose pode ser obtida com um bom rendimento. No entanto, uma vez que o mecanismo de remoção envolve a adsorção, se a capacidade de adsorção é saturada, os inibidores de fermentação escaparão e poderão contaminar os aparelhos, tubos e similares nas etapas subseqüentes. A menos que a reação de fermentação seja realizada com precisão, produtos de alta qualidade não podem ser obtidos e, especialmente, no caso da realização da produção por operação contínua dos aparelhos, enquanto as matérias-primas são continuamente fornecidas, um método de remoção dos inibidores de fermentação estável e preciso é desejado, pois a ocorrência da contaminação dos aparelhos, tubulações e similares trazem um aumento no custo e uma diminuição na qualidade do produto. Além disso, no caso de usar um material de partida possuindo uma baixa concentração de monossacarídeo ou oligossacarídeo de uma pentose ou hexose, um método capaz de reduzir duas etapas, ou seja, uma etapa de concentração de um monossacarídeo ou oligossacarídeo de uma pentose ou uma hexose e uma etapa de remoção de inibidores de fermentação, para apenas uma etapa, ou a redução de carga da etapa de concentração, é desejado do ponto de vista de redução de custo e melhoria de qualidade do produto.

[008] Por outro lado, no caso da utilização de resíduos de materiais de construção, tal como a madeira compensada, como biomassa a base de polissacarídeo, o ácido acético, ácido fórmico e substâncias similares provenientes do adesivo contido na madeira compensada agem como inibidores da fermentação. O Pedido de Patente 2 divulga um método de remoção de inibidores de fermentação voláteis, como o ácido acético e o ácido fórmico por destilação. Este método é pouco efetivo somente quando os inibidores de fermentação não voláteis que não podem ser removidos por destilação estão presentes em uma concentração que não apresenta efeitos adversos sobre o processo de fermentação, e isto dificulta a aplicação do método quando uma biomassa a base de polissacarídeos que possui uma ampla gama de composições é usada como material de partida.

[009] Pedido de Patente 1: JP-A-2005-270056

[010] Pedido de Patente 2: JP-A-2004-187650

[011] Documento não Patentário 1: *Technologies Utilizing Biomass Energy*, revisado por Yukawa, Hideaki, CMC Publishing, Inc. (2006).

[012] Documento não Patentário 2: *Biotechnology Letters*, Vol. 5, No. 3, págs. 175-178 (1983)

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

PROBLEMAS A SEREM RESOLVIDOS PELA INVENÇÃO

[013] A presente invenção foi realizada em vista dos problemas técnicos relacionados acima, e é um objeto da presente invenção fornecer um método para produzir um composto proveniente a partir de uma biomassa de polissacarídeo pela remoção de forma estável e segura dos inibidores de fermentação que funcionam como um obstáculo, a fim de reduzir o ônus e promover a otimização de pelo menos uma das seguintes etapas, ou seja, uma etapa para a produção de um monossacarídeo e/ou

oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose usando uma biomassa a base de polissacarídeo que possui uma ampla gama de composição como matéria-prima, bem como uma etapa para a conversão do monossacarídeo e/ou oligossacarídeo obtido por este método em um produto químico por meio da fermentação.

MODOS PARA RESOLVER OS PROBLEMAS

[014] A presente invenção, que pretende resolver os problemas descritos acima, é alcançada pelas seguintes constituições de (1) a (6).

[015] 1) Um método de produção de um composto proveniente de uma biomassa a base de polissacarídeo, em que o método inclui pelo menos uma das seguintes etapas:

- uma etapa de sacarificação para a produção de uma solução de açúcar contendo um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo a partir de um produto que pode ser obtido pela hidrólise da biomassa a base de polissacarídeos, e;

- uma etapa de fermentação para a fermentação da solução de açúcar contendo o monossacarídeo e/ou oligossacarídeo proveniente da biomassa a base de polissacarídeo;

em que um tratamento para remoção de um inibidor da fermentação é feito com o uso de uma membrana de separação que possui uma taxa de remoção da glicose e uma taxa de remoção de álcool isopropílico que satisfazem simultaneamente as seguintes relações (I) e (II):

(I) Taxa de remoção da Glicose $\geq 80\%$

(II) Taxa de remoção de glicose - taxa de remoção de álcool isopropílico $\geq 20\%$

quando uma solução aquosa de glicose de $0,5 \text{ kg/m}^3$ (500 ppm) em pH 6,5 a 25°C e solução aquosa de álcool isopropílico de $0,5 \text{ kg/m}^3$ (500 ppm) em pH 6,5 a 25°C são, respectivamente, permeadas através da membrana

em uma pressão de operação de 0,5 MPa, e este tratamento é realizado na etapa anterior à etapa de sacarificação e/ou na etapa anterior à etapa de fermentação.

[016] 2) O método de produção de um composto proveniente de uma biomassa a base de polissacarídeo conforme estabelecido no item 1), em que o tratamento para a remoção de um inibidor de fermentação com o uso de uma membrana de separação permite a remoção do inibidor de fermentação e concomitante concentração de celulose, hemicelulose, monossacarídeo e/ou oligossacarídeo.

[017] 3) O método de produção de um composto proveniente de uma biomassa a base de polissacarídeo conforme estabelecido no item 1), em que um tratamento para a concentração dos compostos com a utilização de uma membrana de osmose reversa é realizada após o tratamento para remoção de um inibidor de fermentação com a utilização de uma membrana de separação, e antes da etapa de fermentação.

[018] 4) O método de produção de um composto proveniente de uma biomassa a base de polissacarídeo conforme estabelecido no item 1), em que o tratamento para a remoção de um inibidor de fermentação com o uso de uma membrana de separação é realizada até que o teor do inibidor de fermentação na solução de açúcar obtida imediatamente antes da etapa de fermentação atinja 500 ppm ou menos.

[019] 5) O método de produção de um composto proveniente de uma biomassa a base de polissacarídeo conforme estabelecido no item 1), em que a membrana de separação tem poros possuindo um raio médio de poro mensurado por espectroscopia de vida média de pósitrons (*positron annihilation lifetime spectroscopy*), de 0,8 nm a 4,0 nm.

[020] 6) O método de produção de um composto proveniente de uma biomassa a base de polissacarídeo conforme estabelecido no item 5), em que o raio de poro médio é de 2,5 nm a 4,0 nm.

EFEITOS DA INVENÇÃO

[021] De acordo com a presente invenção, é fornecido um método para produzir um composto proveniente de uma biomassa de polissacarídeo, na qual o método compreende o tratamento para a remoção, com a utilização de uma membrana de separação, de um inibidor da fermentação, que serve como um obstáculo em pelo menos uma das etapas seguintes, ou seja, uma etapa para a produção de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou hexose usando uma biomassa a base de polissacarídeo com um material de partida, e uma etapa de conversão dos monossacarídeos e/ou oligossacarídeo obtidos por este método em um produto químico por meio da fermentação, que é realizada na etapa anterior à etapa de sacarificação e/ou na etapa anterior à etapa de fermentação. A membrana de separação é capaz de remover continuamente os inibidores de fermentação e é capaz de controlar a qualidade da água quando as membranas de separação são selecionadas e conectadas conforme o necessário. Além disso, o método de fornecimento de água bruta para a membrana de separação também pode ser projetado livremente, de modo a incluir variação da taxa de recuperação ou circulação de uma parte da água bruta. Portanto, é possível remover os inibidores da fermentação a uma concentração que não prejudique os processos subsequentes, mesmo quando a biomassa a base de polissacarídeo possuindo uma ampla gama de composição é usada como um material de partida.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[022] A biomassa a base de polissacarídeo que é um assunto a ser tratado pelo método de produção da presente invenção, constituída principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, e seus exemplos incluem recursos agroflorestais, resíduos agroflorestais e produtos agroflorestais processados tais como madeira resinosa (*softwood*), madeira de folhosas (*hardwood*), resíduos de construção, resíduos de madeira da floresta, resíduos

de madeira cortada, palha de arroz, casca de arroz, palha de trigo, madeira em partículas, fibra de madeira, polpa química, papel usado e madeira compensada. Além disso, os materiais contendo menos ou nenhuma lignina, por exemplo, fontes contendo sacarose, tal como a cana-de-açúcar e a beterraba e fontes contendo amido tais como o milho e a batata doce, também podem ser usados como o assunto a ser tratado pelo método de produção da presente invenção, contanto que os materiais contenham ou produzam inibidores da fermentação, exemplos representativos incluem produtos da degradação excessiva de açúcares. Essas biomassas a base de polissacarídeo podem ser utilizadas isoladamente ou podem ser usadas em uma mistura.

[023] As hemiceluloses possuem açúcares denominados de pentoses tal como a xilose, cada um com cinco átomos de carbono como unidades constituintes, açúcares denominados de hexoses, tais como a manose, arabinose e ácido galacturônico, contendo cada um seis átomos de carbono como unidades constituintes, e complexos polissacarídeos, tais como glucomanana e glucuronoxilana. Desse modo, quando submetido à hidrólise, as hemiceluloses geram um monossacarídeo de uma pentose formado por cinco átomos de carbono, um oligossacarídeo de uma pentose possui vários monossacarídeos ligados entre si, um monossacarídeo de uma hexose é formado por seis átomos de carbono, um oligossacarídeo de uma hexose possui um número plural de monossacarídeos ligados entre si, e um oligossacarídeo possuindo um número plural de um monossacarídeo de uma pentose e um monossacarídeo de uma hexose ligados entre si. A celulose possui seis átomos de carbono como unidade constituinte e, portanto, quando submetido à hidrólise, a celulose gera um monossacarídeo de uma hexose formado por seis átomos de carbono e um oligossacarídeo da hexose possuindo um número plural de monossacarídeos ligados entre si. Em geral, a relação de composição ou a quantidade de produção de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de

uma pentose e/ou uma hexose varia de acordo com o método de pré-tratamento ou o tipo de recurso agroflorestal, material de resíduos agroflorestais ou agroflorestais processados utilizados como material de partida.

[024] Vários fluxos de tratamento para a biomassa a base de polissacarídeo têm sido sugeridos, mas o esquema pode ser explicado da seguinte maneira. Primeiro, uma biomassa a base de polissacarídeo é tratada pela hidrólise para eliminar ou suavizar a lignina, e é fornecido a um processo de pré-tratamento para realiza mais facilmente a extração da celulose ou hemicelulose. Posteriormente, um processo de sacarificação é realizado no qual a celulose e uma hemicelulose assim obtida são tratadas por hidrólise, e um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose é coletado. No presente, os tratamentos por hidrólise no processo de pré-tratamento e no processo de sacarificação pode ser, por exemplo, tratamentos que fazem uso de ácidos, álcalis, enzima, alta temperatura e alta pressão (água subcrítica, água supercrítica) ou similares, e estes tratamentos podem ser utilizados isoladamente ou em combinação.

[025] Além disso, o processo de pré-tratamento e o processo de sacarificação podem ser realizados cada um de forma independente, ou podem ser executados de maneira simultânea. Após o processo de sacarificação, um processo de fermentação é realizado em que a celulose, a hemicelulose, um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose são usados como materiais de partida para convertê-los através da fermentação em vários compostos provenientes de uma biomassa a base de polissacarídeo, como alcoóis, como o etanol, butanol, 1,3-propanodiol, 1,4-butanodiol e glicerol, ácidos orgânicos como o ácido pirúvico, ácido succínico, ácido málico, ácido itacônico, ácido cítrico e ácido láctico; nucleosídeos tais como inosina e guanossina, nucleotídeos, como o ácido inosínico e ácido guanílico, e compostos de diamina como a cadaverina. Quando o composto assim obtido através da

fermentação é um monômero, como o ácido láctico, um processo de polimerização para a conversão do monômero em um polímero através da polimerização também pode ser realizado. Finalmente, após o processo de fermentação ou processo de polimerização, um processo de purificação é frequentemente realizado de forma a melhorar a qualidade dos vários compostos resultantes proveniente da biomassa a base de polissacarídeo.

[026] Conforme descrito acima, no processo de pré-tratamento ou processo de sacarificação, a biomassa a base de polissacarídeo é submetida a um tratamento por hidrólise de acordo com um método conhecido fazendo uso de ácidos, álcalis, enzima, alta temperatura e alta pressão (água subcrítica, água supercrítica), ou similares. O tipo ou condições de tratamento de hidrólise pode ser adequadamente selecionado, tendo em vista o tipo da biomassa a base de polissacarídeo utilizada como matéria-prima, e o custo de todo o processo, incluindo a fermentação, polimerização, purificação e assim por diante. O tratamento de hidrólise pode ser realizado como um tratamento único de hidrólise, ou pode ser realizado como uma combinação de múltiplos tratamentos de hidrólise. Por exemplo, se um ácido é usado no tratamento de hidrólise em qualquer processo de pré-tratamento e no processo de sacarificação, o processo de pré-tratamento e de sacarificação podem ser realizados na mesma etapa, ou os respectivos processos podem ser realizados de maneira independente, de modo que o processo de pré-tratamento é realizado sob uma temperatura relativamente mais elevada, enquanto que o de sacarificação é realizado a uma temperatura relativamente mais baixa. Também pode ser utilizado, por exemplo, um método de realização de um processo de pré-tratamento, que é focado na remoção ou amolecimento da lignina com o uso de água subcrítica, e subsequentemente realizar um processo de sacarificação, que é voltado para a produção de um monossacarídeo e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou hexose a partir da celulose ou hemicelulose com o uso de uma enzima.

[027] A partir da biomassa a base de polissacarídeo que foi submetida a um tratamento de hidrólise no processo de pré-tratamento, vários produtos secundários além do monossacarídeo e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose são obtidos. Se esses produtos secundários são substâncias que não prejudicam a sacarificação enzimática, a fermentação bem como as etapas posteriores, os produtos secundários podem ser retirados em qualquer processo, tal como um processo de purificação para a melhoria da qualidade do produto e, portanto, não levantar um problema sério. No entanto, se os produtos secundários são inibidores da fermentação que possuem efeitos negativos, surge a necessidade de remover os produtos secundários nas etapas anteriores à sacarificação enzimática e fermentação, de forma que os produtos secundários não alterem os respectivos processos.

[028] Em geral, um inibidor da fermentação é uma substância que impede uma reação enzimática ou uma reação de fermentação em um processo de sacarificação que faz uso de enzimas ou em um processo de fermentação. Exemplos representativos de inibidor da fermentação incluem produtos da degradação excessiva de açúcares, lignina ou compostos aromáticos derivados da lignina e compostos provenientes de colas ou materiais de revestimento. Dentre estes, os compostos provenientes de produtos químicos artificiais, como adesivos e materiais de revestimento pode ser evitado até certo ponto, utilizando apenas biomassas a base de polissacarídeo de ocorrência natural que não tenham sido submetidas a tais tratamentos. No entanto, uma vez que uma biomassa a base de polissacarídeo é utilizada como material de partida, é difícil evitar a geração de produtos da degradação excessiva de açúcares ou de compostos aromáticos derivados de lignina. Na presente invenção, quando os inibidores da fermentação são sólidos insolúveis como a lignina e a celulose, hemicelulose, monossacarídeo e/ou oligossacarídeo de pentose e/ou hexose são solúveis, pode ser possível remover os inibidores da fermentação através da

separação sólido-líquido convencional. Entretanto, se os inibidores da fermentação, bem como as substâncias úteis são todas solúveis, a separação convencional sólido-líquido não pode ser aplicada e, portanto, o método de tratamento para a remoção de um inibidor da fermentação com o uso de uma membrana de separação utilizada na presente invenção é preferencialmente aplicado. Ou seja, um inibidor da fermentação que é essencialmente tratado na presente invenção, refere-se a um material que forma substancialmente uma solução misturada com celulose, uma hemicelulose, um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou hexose, e está em um estado considerado inseparável ou de difícil separação pelo uso da separação sólido-líquido convencional. Exemplos de tal inibidor da fermentação incluem o ácido acético, ácido fórmico, ácido levulínicos, furfural e 5-hidroximetilfurfural, que são produtos da degradação excessiva de açúcares, vanilina, acetovanilina e guaiacol, que são compostos aromáticos derivados da lignina.

[029] A concentração de inibidores de fermentação que inibe uma reação enzimática ou uma reação de fermentação pode variar de acordo com as respectivas reações, mas geralmente é dita por estar em uma concentração de 500 a 1000 ppm ou mais. Portanto, é preferível retirar o inibidor de fermentação a uma concentração de 500 ppm ou menos, mais preferível remover a uma concentração de 150 ppm ou menos, e mais preferível ainda remover a 0 ppm (limite de detecção), antes do inibidor de fermentação ser fornecido ao processo de sacarificação que utiliza enzimas ou ao processo de fermentação. À medida que a concentração do inibidor de fermentação é cada vez mais diminuída, o ônus do processo de sacarificação que utiliza enzimas ou o processo de fermentação é reduzido e, portanto, pode ser tentada uma operação de funcionamento mais eficiente do processo de sacarificação que usa enzimas ou o processo de fermentação. No entanto, na prática, o custo exigido na etapa de remoção do inibidor de fermentação com o uso de uma membrana de separação

e o custo necessário para os processos de sacarificação enzimática, fermentação, polimerização, purificação e similares nas etapas posteriores são levados em consideração, e a concentração de inibidor de fermentação que daria um custo total mínimo é calculado.

[030] A presente invenção é caracterizada pela utilização de uma membrana de separação para remover um inibidor da fermentação a partir de uma solução contendo celulose, hemicelulose, monossacarídeo e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose, e a membrana de separação não é particularmente limitada desde que ela seja capaz de separar o inibidor de fermentação da celulose, hemicelulose, monossacarídeo e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose. O inibidor de fermentação que está a ser removido pode variar de acordo com o método de fermentação, mas os inibidores de fermentação são essencialmente compostos de baixo peso molecular possuindo um peso molecular entre cerca de 100 a 200, tais como produtos da degradação excessiva de açúcares ou compostos aromáticos derivados de lignina. Por outro lado, o peso molecular da celulose ou hemicelulose é geralmente tão grande quanto de centenas a vários milhares, enquanto que o peso molecular de um monossacarídeo de uma pentose e/ou hexose é de cerca de 100 a 200. Por esta razão, espera-se que seja difícil especificamente a separação entre um inibidor de fermentação com um peso molecular de cerca de 100 a 200 e um monossacarídeo de uma pentose e/ou hexose, em função do diâmetro dos poros da membrana, e a eficiência de separação seria baixa.

[031] Entretanto, os inventores da presente invenção revelaram que, quando uma membrana de nanofiltração é usada como membrana de separação, a taxa de remoção da glicose é particularmente elevada, e por outro lado, quando uma membrana de nanofiltração que possui uma grande diferença entre a taxa de remoção de glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico é

usada, a separação das duas substâncias é alcançada com elevada eficiência, completando assim a presente invenção.

[032] Na presente invenção, uma membrana de nanofiltração é um material denominado de nanofiltro (membrana de nanofiltração, membrana NF), e é uma membrana que é definida em geral como “uma membrana que permite a permeação de um íon monovalente e bloqueia um íon divalente”. Acredita-se que esta é uma membrana que possui microporos com um tamanho de cerca de poucos nanômetros, e tal membrana é usada principalmente para o bloqueio de micropartículas, moléculas, íons, sais e similares na água.

[033] O mecanismo de separação de um soluto com o uso de uma membrana de nanofiltração não foi satisfatoriamente elucidado até o presente, mas é dito que a separação é realizada por uma combinação de um mecanismo de separação com base na repulsão de carga, um mecanismo de separação com base na diferença na afinidade para a membrana de separação, um mecanismo de separação baseado no diâmetro dos poros da membrana, e mecanismos similares. Não é muito difícil imaginar que uma membrana de separação possuindo uma alta taxa de remoção de glicose, que é uma espécie de monossacarídeo de hexose, seria capaz de concentrar uma pentose ou hexose sem permear o açúcar. Entretanto, é um fato surpreendente que a tendência de separação entre um inibidor da fermentação, e os monossacarídeos de pentose e/ou hexose podem ser preditos pelo conhecimento da diferença entre as taxas de remoção para a glicose e álcool isopropílico, que são substâncias orgânicas não carregadas. A razão é a seguinte. Inibidores da fermentação contêm uma grande quantidade de compostos que possuem aromaticidade, sejam eles produtos da degradação excessiva de açúcares ou de compostos aromáticos derivados de lignina. Na separação entre esses compostos que possuem aromaticidade e aqueles compostos que não possuem aromaticidade, como as

pentoses ou hexoses, o mecanismo de separação baseado na diferença de afinidade com a membrana de separação funciona fortemente.

[034] Por isso, pensou-se ser difícil prever que esses compostos pudessem ser facilmente separados, apenas investigando a tendência de separação de substâncias orgânicas não carregadas.

[035] Embora o motivo que exhibe tal tendência tão surpreendente não seja conhecido certamente, acredita-se que o mecanismo de separação baseado no diâmetro dos poros da membrana é prevalente na separação entre os monossacarídeos de pentoses e/ou hexoses e o inibidor de fermentação com o uso de uma membrana de nanofiltração da membrana de separação utilizada na presente invenção. Ou seja, acredita-se que uma vez que um monossacarídeo de uma pentose e/ou hexose é altamente hidrofílico, muitas moléculas de água juntamente com moléculas de monossacarídeos e com um grande raio de hidratação, no entanto, uma vez que um inibidor de fermentação possui baixa hidrofiliabilidade, as moléculas inibidoras não possuem um raio de hidratação similar ao de um monossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose, e esta diferença no raio de hidratação têm efeitos sobre o mecanismo de separação com base no tamanho dos poros da membrana, sendo desse modo alcançada a separação.

[036] Na presente invenção, é preferível utilizar uma membrana de nanofiltração como uma membrana de separação. Como material para a membrana de nanofiltração utilizadas na presente invenção, pode ser usado um material polimérico tal como um polímero à base de éster de celulose, tais como acetato de celulose, poliamida, poliéster, poliamida, e um polímero de vinil. No entanto, a membrana não se limita a uma membrana construída a partir de um único tipo de material, e também pode ser uma membrana contendo diversos materiais de membrana. A estrutura da membrana pode ser uma membrana assimétrica que possui uma camada densa de pelo menos uma superfície da

membrana e tem poros com diâmetro de poro que aumenta gradualmente a partir da camada densa em direção ao interior da membrana, ou para a outra superfície, ou uma membrana composta possuindo, na camada densa da membrana assimétrica, uma camada funcional muito fina formada a partir de um material diferente. Como uma membrana composta, o uso pode ser feito, por exemplo, uma membrana composta que constitui um nanofiltro formado a partir de uma camada de poliamida funcional sobre uma película de suporte de polissulfona como material filme, conforme descrito na JP-A-62-201606.

[037] Entre estas, uma membrana composta possuindo uma camada funcional formada a partir de poliamida, que possui ao todo, resistência a alta pressão, alta permeabilidade à água e alto desempenho de remoção de soluto e tem um excelente potencial, é preferida. Para que a membrana composta seja capaz de manter a durabilidade contra a pressão de operação, alta permeabilidade da água e alto desempenho de bloqueio, é adequado uma estrutura com uma camada funcional feita de poliamida e que a camada funcional seja mantida sobre um suporte formado por uma membrana porosa ou tecido não-tecido. Além disso, uma membrana de poliamida semipermeável adequada é uma membrana semipermeável composta que possui uma camada funcional de poliamida reticulada, que é obtida por uma reação de policondensação entre uma amina polifuncional e um haleto de ácido polifuncional, fornecido sobre um suporte.

[038] Com relação a uma membrana de nanofiltração com uma camada funcional feita de poliamida, exemplos preferidos de componente de ácido carboxílico do monômero que constitui a poliamida incluem ácidos carboxílicos aromáticos como ácido trimésico, ácido benzofenonatetracarboxílico, ácido trimelítico, ácido piromético, ácido isoftálico, ácido tereftálico, ácido naftalenodicarboxílico, ácido difenilcarboxílico e ácido piridinocarboxílico. Após a formação de uma membrana, haletos ou anidridos

destes ácidos carboxílicos são usados com preferência para aumentar a reatividade com o componente amina que será descrito a seguir, no entanto, se a manuseabilidade tal como a solubilidade em solvente em particular, é levada em consideração, halogenetos de ácido trimésico, ácido isoftálico, ácido tereftálico e misturas destes ácidos são mais preferidos.

[039] Exemplos preferidos do componente amina para o monômero, que constitui a poliamida, incluem diaminas primárias que possuem anéis aromáticos, tais como m-fenilenodiamina, p-fenilenodiamina, benzidina, metilenobisdianilina, éter 4,4'-diaminobifenil, dianisidina, 3,3',4' triaminobifenil éter, 3,3',4,4'-tetraaminobifenil éter, 3,3'dioxibenzidina, 1,8-naftalenodiamina, m(p)-monometilfenilenodiamina, 3,3'-monometilamino-4,4'-diaminobifenil éter, 4,N,N' - (4 - aminobenzoíl) – p(m) – fenilenodiamina - 2,2' – bis (4-aminofenilbenzoimidazol), 2,2'-bis(4-aminofenilbenzoxazol) e 2,2'-bis(4-aminofenilbenzotiazol) e diaminas secundárias, tais como piperazina, 2,5 dimetilpiperazina, piperidina e derivados destas. Na presente invenção, uma membrana de nanofiltração com uma camada funcional feita de poliamida reticulada contendo piperazina ou piperidina como um monômero, tem resistência ao calor e resistência química, além de resistência a pressão e durabilidade, e, portanto, é preferencialmente utilizada. Um exemplo mais preferido é uma poliamida contendo a poliamida piperazina reticulada, a poliamida piperidina reticulada como componente principal, e um exemplo mais preferido é uma poliamida contendo a poliamida piperazina reticulada como um componente principal. Exemplos de membrana de nanofiltração contendo uma poliamida piperazina reticulada como um componente principal inclui aquelas descritas na JP-A-62-201606, e um exemplo específico pode ser uma membrana de nanofiltração (NF) de poliamida reticulada (UTC-60), fabricada pela *Toray Industries, Inc.*

[040] Além disso, mesmo o método para formar uma camada de filme ultrafino de poliamida reticulada em uma película de suporte contendo polissulfona como material filme, e em seguida, tratando a camada de filme ultrafino com uma solução aquosa de um composto peroximono ou uma solução aquosa de um composto de ácido peroxidissulfúrico, conforme descrito na patente JP-A-5-96140, uma membrana de nanofiltração é obtida pelo controle das condições de tratamento. A poliamida reticulada pode ser produzida a partir dos componentes de ácido carboxílico e componentes de amina acima mencionados.

[041] Uma membrana de nanofiltração é também obtida por trazer um filme de poliamida que possui uma camada funcional que contém um grupo amina primária, em contato sob condições adequadas, com um reagente que é capaz de produzir um sal de diazônio ou um derivativo deste pela reação com um grupo amino primário, conforme descrito na patente JP-A-2005-177741. A fim de se obter uma camada funcional contendo um grupo amino primário, entre os componentes de aminas acima mencionados, pode ser utilizada uma diamina primária contendo um anel aromático, tal como a *m*-fenilenodiamina, *p*-fenilenodiamina, benzidina, metilenobisdianilina, 4,4'-diaminobifenil éter, dianisidina, 3,3',4'-triaminobifenil éter, 3,3',4,4'-tetraminobifenil éter, 3,3'-dioxibenzidina, 1,8-naftalenodiamina, *m*(*p*)-monometilfenilenodiamina, 3,3'-monometilamina-4, 4'-diaminobifenil éter, 4,*N,N'*-(4-aminobenzoil)-*p*(*m*)-fenilenodiamina-2,2'-*bis* (4-aminofenilbenzoimidazol), 2,2'-*bis*(4-aminofenilbenzoxazol), ou 2,2'-*bis* (4-aminofenilbenzotiazol).

[042] Como uma membrana de nanofiltração que é preferível como membrana de separação utilizada na presente invenção, é preferível em particular uma membrana de nanofiltração com uma alta taxa de remoção de glicose e com uma grande diferença na taxa de remoção da glicose e taxa de eliminação de álcool isopropílico, pois é mais fácil a separação entre um

monossacarídeo de uma pentose e/ou hexose e um inibidor da fermentação. Portanto, uma membrana de nanofiltração com uma taxa de remoção da glicose de 80% ou mais e uma diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico de 20% ou mais é necessária. É preferível que a taxa de remoção da glicose seja de 90% ou mais, e é até mais preferível que a taxa de remoção da glicose seja de 95% ou mais. Além disso, é preferível que a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico seja de 30% ou mais, e é até preferível que a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico seja de 50% ou mais.

[043] De acordo com a presente invenção, uma membrana nanofiltradora possuindo uma taxa de remoção da glicose de 80% ou mais e uma diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico de 20% ou mais é necessária, porém uma membrana de nanofiltração pode ser adequadamente selecionada para que, após que estas condições serem atingidas, uma taxa de recuperação da celulose, hemicelulose, monossacarídeo e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou hexose, e uma taxa de recuperação de um inibidor da fermentação possa ser obtida levando-se em conta a qualidade da água do líquido a ser tratado e os custos totais. Por exemplo, quando a concentração do inibidor da fermentação é baixa e a concentração de celulose, hemicelulose, monossacarídeos e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose é elevada, é preferível dar prioridade à taxa de remoção da glicose do que para a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico, de modo que o escoamento da celulose, hemicelulose, monossacarídeos e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou hexose possa ser suprimida, e em seguida, o inibidor da fermentação possa ser removido. Neste caso, é preferível uma taxa de remoção da glicose da membrana de nanofiltração de 95% ou mais, e é mais preferida

uma taxa de remoção da glicose de 98% ou mais, e é ainda mais preferida e uma taxa de remoção de glicose de 99% ou mais. Por outro lado, é preferível uma diferença entre a taxa de remoção da glicose e a de remoção de álcool isopropílico da membrana de nanofiltração de 25% ou mais, e é mais preferível uma diferença entre a taxa de remoção da glicose e a de remoção de álcool isopropílico de 30% ou mais. Além disso, por exemplo, quando a concentração do inibidor da fermentação é alta e a concentração de celulose, hemicelulose, monossacarídeos e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou hexose é baixa, é preferível dar prioridade à diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico do que dar prioridade a taxa de remoção da glicose, pois o inibidor da fermentação pode ser removido em um curto espaço de tempo. Neste caso, é preferível uma diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico da membrana de nanofiltração de 30% ou mais, e é mais preferível uma diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico de 50% ou mais, e é ainda mais preferível uma diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico de 60% ou mais. Por outro lado, uma taxa de remoção da glicose da membrana de nanofiltração de 90% ou mais é preferível, e uma taxa de remoção da glicose de 95% ou mais é ainda mais preferível.

[044] A taxa de remoção da glicose ou a taxa de remoção do álcool isopropílico é avaliada por meio de uma solução aquosa de glicose de 500 ppm ou de uma solução de álcool isopropílico aquoso de 500 ppm em pH 6,5 a 25 °C, permeando cada uma das soluções através de uma membrana de separação a uma pressão de operação 0.5 MPa, e comparando as concentrações de glicose ou álcool isopropílico na água permeada e na fonte de água. Ou seja, o cálculo é realizado pela seguinte fórmula: taxa de remoção de glicose (%) = $100 \times (1 - (\text{concentração de glicose na água permeada} / \text{concentração de glicose na fonte de água}))$, e taxa de remoção de álcool

isopropílico (%) = $100 \times (1 - (\text{a concentração de álcool isopropílico na água permeada} / \text{concentração de álcool isopropílico na fonte de água}))$.

[045] Para a membrana de nanofiltração exibindo uma taxa de remoção da glicose e uma taxa de remoção de álcool isopropílico no intervalo mencionado acima, quando o raio médio dos poros da camada funcional de separação da membrana é medida por espectroscopia de vida média de pósitrons, constatou-se que o raio médio dos poros é de 0,8 nm a 4,0 nm. A camada funcional de separação da membrana de nanofiltração é uma camada responsável pela separação substancial de um soluto na membrana de nanofiltração, e geralmente está localizada na camada mais externa ou próxima a camada superficial da membrana de nanofiltração.

[046] A espectroscopia de vida média de pósitrons é uma técnica para a medição do tempo levado por um pósitron a partir do ponto de entrada em uma amostra até o ponto de aniquilação (na ordem de várias centenas de picosegundos a várias dezenas de nanosegundos) e avalia de maneira não-invasiva os dados relacionados ao tamanho dos poros de cerca de 0,1 a 10 nm, a densidade numérica e a distribuição de tamanho com base no tempo de aniquilação. Com relação a tal método de análise, os detalhes estão descritos, por exemplo, em "*Lectures on Experimental Chemistry*", 4^a Edição, vol. 14, pág. 485, editada pela Sociedade de Química do Japão, publicado pela *Maruzen Corp* (1992).

[047] Esta técnica é praticamente classificada em dois tipos com base no tipo da fonte de radiação de pósitrons. Um tipo é um método de Na^{22} fazendo uso de um radioisótopo (Na^{22}) como a fonte de radiação de pósitrons, e é apropriado para uma avaliação de poros em resinas, pós, fibras, líquidos e similares. O outro tipo é o método de feixe de pósitrons que utiliza um feixe de pósitrons emitidos por um acelerador linear de elétrons como fonte de radiação de pósitrons, e permite uma avaliação dos poros de filmes finos com uma

espessura de algumas centenas de nanômetros, formados sobre diversas bases. Particularmente, no último método do feixe de pósitrons, mesmo quando uma membrana de nanofiltração é usada como amostra a ser mensurada, a camada funcional da membrana de nanofiltração pode ser mensurada apenas colocando a membrana em um estado seco, e não há necessidade de executar o processamento da membrana, tal como a separação da camada funcional da membrana de nanofiltração. Portanto, o método do feixe de pósitrons é mais preferido como método para a análise da camada funcional de separação de uma membrana de nanofiltração.

[048] No método do feixe de pósitrons, a faixa de medição no sentido da profundidade da superfície da amostra é regulada em função da quantidade de energia do feixe de pósitrons incidente. Quando a energia é aumentada, uma proporção mais profunda a partir da superfície da amostra é incluída na faixa de medição, porém a profundidade é dependente da densidade da amostra. A fim de mensurar a camada funcional de separação de uma membrana de nanofiltração, quando um feixe de pósitron entra geralmente com uma energia de cerca de 1 keV, uma faixa de cerca de 50 a 150 nm a partir da superfície da amostra é mensurada. No caso de uma camada funcional de separação com uma espessura de cerca de 150 a 300 nm, a parte central da camada funcional de separação pode ser especificamente mensurada de maneira seletiva.

[049] Um pósitron e um elétron se ligam através de suas forças coulômbica mútua e geram positrônio Ps, que é um átomo neutro similar ao hidrogênio. Ps tem para-positrônio, p-Os; e orto-positrônio, o-Ps, dependendo se os *spins* dos elétrons e pósitrons são antiparalelos ou paralelos, ou similar, e o para-positrônio e o orto-positrônio são gerados na proporção de 1:3 de acordo com o teorema da estatística de spin. Suas respectivas vidas médias são 125 ps para o p-Ps e 140 ps para o o-Ps. No entanto, em uma substância em estado

agregado, o o-Ps é sobreposto com um elétron que é diferente daquele ao qual está vinculada, e tem uma maior probabilidade de provocar uma aniquilação denominada de aniquilação “*pick-off*”. Como resultado, a duração média do o-Ps é reduzida para poucos nanossegundos. A aniquilação do o-Ps de um material isolante é causada pela sobreposição de um o-Ps com a presença de um elétron sobre as paredes dos poros na substância, e como o tamanho dos poros é menor, a velocidade de aniquilação é acelerada. Ou seja, o tempo de aniquilação de um o-Ps pode estar correlacionado com o diâmetro de poro de um material isolante.

[050] O tempo de vida para a aniquilação τ baseado na aniquilação “*pick-off*” do o-Ps pode ser obtido em uma análise feita dividindo uma curva do tempo de vida da aniquilação do pósitron medido pela espectroscopia de vida média de pósitrons, em quatro componentes por um programa de quadrados não lineares, POSITRONFIT (os detalhes estão descritos, por exemplo, em P. Kirkegaard, *et al. Computer Physic Communications*, vol. 3, pág. 240, *North Holland Publishing Company* (1972)), especificamente a partir da análise dos resultados para o quarto componente.

[051] O raio médio de poro R na camada funcional de separação da membrana de nanofiltração de acordo com a presente invenção é um valor determinado a partir da seguinte fórmula (1), usando o tempo de vida de pósitrons τ . A fórmula (1) representa a relação, no caso de assumir que o o-Ps está presente em um poro com um raio R em uma camada de elétrons com uma espessura de AR e AR é empiricamente determinada como sendo 0,166 nm (os detalhes estão descritos em Nakanishi, *et al. Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, vol. 27, pág. 1419, *John Wiley Sons &, Incorporated* (1989)).

EXPRESSÃO 1

$$[\text{Expressão 1}] \tau^{-1} = 2 \left[1 - \frac{R}{R+\Delta R} + \frac{1}{2\pi} \text{sen} \left(\frac{2\pi R}{R+\Delta R} \right) \right] \quad (1)$$

[052] Após a expressão do desempenho de uma membrana de separação, o uso não é feito apenas para as taxas de remoção descritas acima, mas também o desempenho da permeação, que está em uma relação de escolha com as taxas de remoção. Por exemplo, em uma membrana de separação que possui uma taxa de remoção equilibrada e um alto desempenho de permeação, o tempo necessário para a operação de separação é encurtado, o que é preferível. Na presente invenção, é utilizada preferencialmente uma membrana de separação que exhibe um desempenho de permeação de $0,5 \text{ m}^3/\text{m}^2\text{d}$ ou maior quando uma solução aquosa de glicose de 500 ppm em pH 6,5 a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ é permeado através dela a uma pressão de operação de 0,5 MPa. Uma membrana de separação exibindo um desempenho de permeação de $0,7 \text{ m}^3/\text{m}^2\text{d}$ ou mais é preferível, pois a operação de separação pode ser realizada em um período menor.

[053] Em relação à membrana de separação utilizada na presente invenção, as membranas de separação podem ser cuidadosamente selecionadas e conectadas entre si para o uso de acordo com a necessidade, a fim de controlar a qualidade da água. No que diz respeito à seleção e conexão das membranas de separação, se pelo menos uma membrana de separação exibindo uma taxa de remoção da glicose e uma taxa de remoção de álcool isopropílico nos intervalos descritos acima é usada, os inibidores da fermentação podem ser eficientemente removidos. Por exemplo, em primeiro lugar, é aceitável a realização de um tratamento grosseiro usando uma membrana de separação que possui uma baixa taxa de remoção de inibidores da fermentação, mas que tem alto desempenho de permeação, e em seguida, realizar um tratamento para melhorar a qualidade da água, usando uma membrana de separação possuindo baixo desempenho de permeação, mas com uma alta taxa de remoção de inibidores da fermentação. Tal seleção e ligação das membranas de

separação são utilizadas com preferência nos casos em que a concentração de monossacarídeo e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou hexose, bem como a concentração de inibidor da fermentação é baixa, pelo fato de que a concentração e a remoção do inibidor da fermentação podem ser realizadas simultaneamente.

[054] A forma da membrana de separação utilizada na presente invenção não é especificamente limitada, contanto que a membrana seja capaz de tratar uma biomassa a base de polissacarídeo, e pode ser selecionado para o uso de uma membrana de forma lisa, uma membrana com forma de fibra oca, uma membrana de forma plissada (pregueada), uma membrana de forma tubular, e similares. Sobretudo, um assim chamado "componente do tipo espiral", que é produzido pela transformação de uma membrana lisa em uma forma de envolver, enrolando a membrana em uma forma circungirada juntamente com vários membros, como uma rede, é utilizado com preferência, porque a área da membrana pode ser ampliada.

[055] A membrana de separação pode ser eliminada a partir de um ponto em que um inibidor da fermentação é gerado, a um ponto onde o inibidor da fermentação é transportado para as etapas que são prejudicadas pela presença do inibidor da fermentação, tal como a etapa de sacarificação que utiliza uma enzima, e o processo de separação, de modo que o inibidor da fermentação possa ser removido na medida em que o inibidor da fermentação não prejudique os processos subseqüentes. Além disso, a fim de controlar a qualidade da água, o método de fornecimento de água bruta para a membrana de separação também pode ser desenvolvida livremente, de modo que a taxa de recuperação é modificada, ou uma parte da água bruta é distribuída. Por exemplo, o método de fornecimento também

pode ser modificado com base no tipo da biomassa a base de polissacarídeo.

[056] Como tal, o tratamento de uma biomassa a base de polissacarídeo com o uso de uma membrana de separação tem um alto grau de liberdade no projeto e, portanto, mesmo quando diferentes biomassas a base de polissacarídeo são usadas como matérias-primas, o inibidor da fermentação pode ser removido até que os inibidores da fermentação não prejudiquem os processos subseqüentes.

[057] Além disso, a fim de remover um inibidor da fermentação a partir de uma solução contendo um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose, usando uma membrana de separação que exibe uma taxa de remoção de glicose e uma taxa de remoção de álcool isopropílico nos intervalos mencionados acima, o monossacarídeo e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose está mais concentrado do que o inibidor da fermentação, e é recuperado a partir do lado da solução salina. Ou seja, quando uma membrana de separação que exibe uma taxa de remoção da glicose e uma taxa de remoção de álcool isopropílico nos intervalos descritos acima é usada, pode ocorrer uma situação em que a concentração de monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose pode ser realizadas simultaneamente, enquanto o inibidor da fermentação é removido. Assim, a membrana de separação pode ser usada de maneira adequada em uma solução com baixa concentração de monossacarídeo e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose. Como resultado, um método convencional que exige duas etapas, sendo uma etapa para a concentração de um monossacarídeo e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose, e uma etapa para a remoção de um inibidor da fermentação, pode ser

encurtado para uma única etapa, ou o ônus da etapa de concentração pode ser reduzido.

[058] A seguir, a presente invenção será descrita por meio de exemplos específicos, mas não há o intuito da presente invenção ser limitada por esses exemplos.

EXEMPLOS

[059] As medições nos Exemplos e Exemplos Comparativos foram realizadas como segue. Além disso, as membranas de separação de A a G usadas nos exemplos e exemplos comparativos foram produzidas da seguinte forma.

[060] Nos Exemplos de 1 a 8 e Exemplos Comparativos 1 e 2, a seguinte solução aquosa modelo foi elaborada e fornecida para as diferentes membranas de separação, a fim de avaliar se um inibidor da fermentação pode ser removido a partir de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose. Ou seja, a glicose e a sacarose foram utilizadas como monossacarídeos e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou hexose, e furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina foram usados como inibidores da fermentação. Uma solução aquosa modelo foi preparada pela dissolução de cada uma das substâncias em água a uma concentração de 500 ppm.

[061] No Exemplo 9, a glicose foi usada como monossacarídeo e/ou oligossacarídeo de uma pentose e/ou hexose, e furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina foram usados como inibidores da fermentação, a fim de investigar o efeito da concentração do inibidor da fermentação na taxa de crescimento de um bacilo de cólon e de uma levedura.

(TAXA DE REMOÇÃO DE ÁLCOOL ISOPROPÍLICO)

[062] Uma avaliação foi feita comparando as concentrações de álcool isopropílico na água de permeação e na água da fonte, os quais foram obtidos quando uma solução de álcool isopropílico aquoso 500 ppm com pH

ajustado para 6,5 e uma temperatura de 25 °C foi fornecida a uma membrana de separação a uma pressão de operação de 0,5 MPa. De modo que o cálculo foi realizado pela seguinte fórmula: taxa de remoção de álcool isopropílico (%) = $100 \times (1 - (\text{concentração de álcool isopropílico na água permeada} / \text{concentração de álcool isopropílico na fonte de água}))$. A concentração de álcool isopropílico foi determinada pela análise por cromatografia gasosa convencional.

(TAXA DE REMOÇÃO DA GLICOSE)

[063] Uma avaliação foi feita comparando as concentrações de glicose na água permeada e na água da fonte de água, os quais foram obtidos quando uma solução de glicose aquosa 500 ppm com pH ajustado para 6,5 e uma temperatura de 25 °C foi fornecida a uma membrana de separação a uma pressão de operação de 0,5 MPa. De modo que o cálculo foi realizado pela seguinte fórmula: taxa de remoção da glicose (%) = $100 \times (1 - (\text{concentração de glicose na água permeada} / \text{concentração de glicose na fonte de água}))$.

[064] A concentração de glicose foi determinada através de um refratômetro (RID-6A, fabricado pela Shimadzu Corp.)

(DESEMPENHO DA PERMEAÇÃO)

[065] A quantidade de água permeada (m^3) por unidade de tempo (d) e unidade de área (m^2), obtida quando uma solução aquosa de glicose 500 ppm com o pH ajustado para 6,5, a uma temperatura de 25 °C foi fornecida a uma membrana de separação a uma pressão de operação de 0.5 MPa, foi mensurada e os resultados de permeação ($\text{m}^3/\text{m}^2\text{d}$) foram calculados.

(ESPECTROSCOPIA DE VIDA MÉDIA DE PÓSITRONS DE ACORDO COM O MÉTODO DO

FEIXE DE PÓSITRONS)

[066] A fim de realizar a espectroscopia de vida média de pósitrons sem o tratamento específico de separar a camada funcional de uma membrana de separação, a análise pode ser feita usando um método de feixe de pósitrons da seguinte forma. Ou seja, uma amostra de medição seca colocada

sob pressão reduzida em temperatura ambiente e cortada em um tamanho de 1,5 cm x 1,5 cm, foi mensurada com o filme fino de forma correspondente com um aparelho para mensurar o tempo de vida para a aniquilação de pósitrons que continha um aparato para a geração de feixe de pósitrons (os detalhes do aparelho estão descritos, por exemplo, em: *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 58, pág. 603, *Pergamon Press* (2000)), com uma intensidade de feixe de 1 keV, no vácuo a temperatura ambiente, a um número de contagem total de 5.000.000 por meio de um contador de cintilação feito de difluoreto de bário, utilizando um tubo fotomultiplicador. A interpretação é realizada com o *POSITRONFIT*. A partir do tempo de vida médio τ do quarto componente obtido pela interpretação, o raio médio de poro R , o volume médio de poro V , a intensidade relativa I , e a quantidade de poros $V \times L$ pode ser analisada.

(PRODUÇÃO DE FILME DE SUPORTE DE POLISULFONA)

[067] O filme de suporte de polisulfona utilizado na presente invenção foi produzido pela seguinte técnica. Um tecido não-tecido úmido de um tecido misto de fibras de poliéster, possuindo respectivamente uma única finura de fio de 0,5 e 1,5 decitex, possuindo o tecido não-tecido um tamanho de 30 cm de comprimento e 20 cm de largura, uma permeabilidade ao ar de $0,7 \text{ cm}^3/\text{cm}^2\text{-segundo}$ e um diâmetro médio de poro de $7 \mu\text{m}$ ou menos, foi fixado em uma placa de vidro. Uma solução de polissulfona em uma concentração de 15% em peso em solvente dimetilformamida (DMF) (2,5 Poise: 20 °C) foi adicionado sobre o tecido não-tecido molhado com uma espessura total de $200 \mu\text{m}$, e a montagem foi imediatamente imersa em água. Desse modo, um filme de suporte de polissulfona foi obtido.

(PRODUÇÃO DA MEMBRANA DE SEPARAÇÃO A)

[068] O filme de suporte de polisulfona foi imerso por 2 minutos em uma solução aquosa contendo 2,0% em peso de m-fenilendiamina e 2,0% em peso de ϵ -caprolactama e, em seguida, uma solução preparada

pela dissolução de cloreto de ácido trimésico em decano a uma concentração de 0,1% em peso foi aplicada sobre este a uma proporção de 160 cm³/m². Em seguida, a solução excedente foi removida e, portanto, uma membrana de separação foi obtida. A membrana de separação obtida dessa forma foi tratada por 2 minutos em temperatura ambiente com uma solução aquosa contendo 0,07% em peso do nitrito de sódio e 0,1% em peso de ácido sulfúrico concentrado, em seguida, foi imediatamente lavada com água, e foi armazenada em temperatura ambiente. Desse modo, uma membrana de separação A foi obtida.

(PRODUÇÃO DA MEMBRANA DE SEPARAÇÃO B)

[069] 20,0 g de etanol e 10,8 g de glicerina foram adicionados a um copo, e quando a mistura foi vigorosamente agitada, 20,0 g de tetra-*n*-butoxititanio foi adicionado à mesma. Após 5 minutos, enquanto o gel assim obtido foi agitado com um bastão de vidro, 6,0 g de amônia aquosa 28% foi adicionado à mesma. Depois que o gel se transformou em uma forma de solução turva, o gel foi novamente agitado por duas horas com um agitador. A solução turva assim obtida foi submetida à centrifugação (2500 rpm, por 3 minutos). Sólidos de cor branca precipitados foram colocados novamente em uma solução turva com o etanol, e a solução turva foi submetida à centrifugação (2500 rpm, por 3 minutos). Os sólidos brancos precipitados foram recuperados. Os sólidos brancos assim obtidos foram secos sob vácuo em temperatura normal, e foram adicionalmente secos em vácuo a 120 °C por 3 horas. Desse modo, um sólido branco em forma de pó foi obtido.

[070] O sólido branco em forma de pó, assim obtido foi preparado em uma solução diluída de ácido clorídrico (sólido branco/água/1 N de ácido clorídrico = 1/5.5/3.5% em peso), e a solução foi aplicada sobre o filme de suporte de polisulfona. Gotículas de líquido na superfície foram removidas soprando nitrogênio, e, em seguida, o conjunto foi seco por uma

hora com um secador de ar quente a 90 °C. Desse modo, uma membrana de separação B foi obtida.

(PRODUÇÃO DA MEMBRANA DE SEPARAÇÃO C)

[071] O filme de suporte de polisulfona foi imerso por 2 minutos em uma solução aquosa contendo 2,0% em peso de m-fenilenodiamina e 2,0% em peso de ϵ -caprolactama e, em seguida, uma solução preparada pela dissolução de cloreto de ácido trimésico em decano a uma concentração de 0,1% em peso foi aplicada sobre este a uma proporção de 160 cm³/m². Em seguida, a solução excedente foi removida e, portanto, uma membrana de separação foi obtida. A membrana de separação obtida dessa forma foi tratada por 2 minutos em temperatura ambiente com uma solução aquosa contendo 0,07% em peso do nitrito de sódio e 0,1% em peso de ácido sulfúrico concentrado, em seguida, foi imediatamente lavada com água, e foi armazenada em temperatura ambiente. Desse modo, uma membrana de separação C foi obtida.

(PRODUÇÃO DA MEMBRANA DE SEPARAÇÃO D)

[072] O filme de suporte de polisulfona foi imerso por 2 minutos em uma solução aquosa contendo 2,0% em peso de m-fenilenodiamina e 2,0% em peso de ϵ -caprolactama e, em seguida, uma solução preparada pela dissolução de cloreto de ácido trimésico em decano a uma concentração de 0,1% em peso foi aplicada sobre este a uma proporção de 160 cm³/m². Em seguida, a solução excedente foi removida e, portanto, uma membrana de separação foi obtida. A membrana de separação obtida dessa forma foi tratada por 60 minutos em temperatura ambiente com uma solução aquosa contendo 0,07% em peso do nitrito de sódio e 0,1% em peso de ácido sulfúrico concentrado, em seguida, foi imediatamente lavada com água, e foi armazenada em temperatura ambiente. Desse modo, uma membrana de separação D foi obtida.

(PRODUÇÃO DA MEMBRANA DE SEPARAÇÃO E)

[073] O filme de suporte de polisulfona foi imerso por 1 minuto em uma solução aquosa contendo 2,0% em peso de m-fenilenodiamina e, em seguida, uma solução preparada pela dissolução de cloreto de ácido trimésico em decano a uma concentração de 0,1% em peso foi aplicada sobre este a uma proporção de 160 cm³/m². Então, o excesso de solução foi removido, e o conjunto foi imerso em uma solução aquosa de carbonato de sódio 0,2% em peso por 5 minutos. A membrana de separação obtida dessa forma foi tratada por 2 minutos em uma solução aquosa de peroxissulfato de potássio ajustada a uma concentração de 1,0% em peso e pH 6,0, em seguida, foi imediatamente lavada com água, e foi armazenada em temperatura ambiente. Desse modo, uma membrana de separação E foi obtida.

(PRODUÇÃO DA MEMBRANA DE SEPARAÇÃO F)

[074] O filme de suporte de polisulfona foi revestido com uma solução aquosa contendo 1,0% em peso de piperazina, 0,2% em peso de 1,3-bis (4-piperidil)-propano, 0,5% em peso de sulfato dodecil de sódio e 1,0% em peso de fosfato trissódico, e foi seco ao ar em temperatura ambiente por 2 minutos. Posteriormente, uma solução preparada pela dissolução de uma mistura de cloreto de ácido isoftálico e cloreto de ácido trimésico (relação de peso de 2:1) em decano a 1,0% em peso foi aplicada sobre este a uma proporção de 160 cm³/m², e o conjunto foi tratado termicamente por 5 minutos com o ar quente a 100 °C. O conjunto foi, em seguida, imediatamente lavado com água e foi armazenado em temperatura ambiente. Desse modo, uma membrana de separação F foi obtida.

(PRODUÇÃO DA MEMBRANA DE SEPARAÇÃO G)

[075] O filme de suporte de polisulfona foi revestido com uma solução aquosa contendo 1,0% em peso de piperazina, 0,2% em peso de 1,3-bis (4-piperidil)-propano, 2,0% em peso de sulfato dodecil de sódio e 1,0% em

peso de fosfato trissódico, e foi seco com ar quente a 80°C por 30 segundos. Posteriormente, uma solução preparada pela dissolução de uma mistura de cloreto de ácido isoftálico e cloreto de ácido trimésico (relação de peso de 1:1) em decano a 0,5% em peso foi aplicada sobre esta a uma proporção de 160 cm³/m², e o conjunto foi tratado por aquecimento por 5 minutos com o ar quente a 100 °C. O conjunto foi, em seguida, imediatamente lavado com água e foi armazenado em temperatura ambiente. Desse modo, uma membrana de separação G foi obtida.

EXEMPLO 1

[076] Uma UTC-60 (membrana de nanofiltração (NF) de poliamida reticulada fabricada pela Toray Industries, Inc.) foi utilizada como membrana de separação para avaliar a taxa de remoção do álcool isopropílico, a taxa de remoção da glicose, e o desempenho da permeação. A UTC-60 teve uma taxa de remoção de álcool isopropílico de 35%, uma taxa de remoção de glicose de 95%, e um desempenho de permeação de 1,1 m³/m²d, e a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico foi de 60%. Além disso, o raio médio de poros da UTC-60, mensurado por espectroscopia de vida média de pósitrons foi de 2,5 nm a 3,5 nm.

[077] Uma solução aquosa modelo ajustada a uma temperatura de 25 °C e em pH 6,5 foi fornecida a uma pressão de operação de 0,5 MPa, e as concentrações de glicose, concentração de sacarose, concentrações de furfural, concentrações de 5-hidroximetilfurfural e concentrações de vanilina da água permeada e da água da fonte de água foram mensuradas usando um refratômetro (RID-6A, fabricado pela Shimadzu Corp) ou um absorciômetro ultravioleta-visível (UV VISIBLE SPECTROPHOTOMETER 2450, fabricado pela Shimadzu Corp), e as respectivas taxas de remoção foram determinadas. Os resultados estão resumidos na Tabela 1. Como pode ser visto na Tabela 1, uma vez que a UTC-60 teve altas taxas de remoção de glicose e sacarose, e baixas

taxas de remoção de furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina, verificou-se que a membrana foi capaz de remover os inibidores da fermentação a partir de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou hexose.

EXEMPLO 2

[078] A operação foi realizada da mesma forma como no Exemplo 1, exceto que a UTC-20 (membrana de nanofiltração (NF) de poliamida reticulada fabricada pela Toray Industries, Inc.) foi utilizada como membrana de separação. A UTC-20 teve uma taxa de remoção de álcool isopropílico de 30%, uma taxa de remoção de glicose de 84%, e um desempenho de permeação de 0,8 m³/m²d, e a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico foi de 54%. Além disso, o raio médio de poros da UTC-20, mensurado por espectroscopia de vida média de pósitrons foi de 3,5 nm a 4,0 nm.

[079] Além disso, os resultados da avaliação realizada utilizando a solução aquosa modelo, estão resumidos na Tabela 1. Como pode ser visto na Tabela 1, uma vez que a UTC-20 teve altas taxas de remoção de glicose e sacarose, e baixas taxas de remoção de furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina, verificou-se que a membrana foi capaz de remover os inibidores da fermentação a partir de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose.

EXEMPLO 3

[080] A operação foi realizada da mesma forma como no Exemplo 1, exceto que a membrana de separação A foi usada como uma membrana de separação. A membrana de separação A teve uma taxa de remoção de álcool isopropílico de 70%, uma taxa de remoção de glicose de 99,5%, e um desempenho de permeação de 1,3 m³/m²d, e a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico foi de 29,5%. Além disso, o raio médio de poros da membrana de separação A, conforme

mensurado por espectroscopia de vida média de pósitrons foi de 0,8 nm a 1,0 nm.

[081] Além disso, os resultados da avaliação realizada utilizando a solução aquosa modelo, estão resumidos na Tabela 1. Como pode ser visto na Tabela 1, a membrana de separação A apresentou alta taxa de remoção de glicose e sacarose, e verificou-se que não havia quase nenhuma saída da glicose e sacarose para o lado da permeação. Por outro lado, uma vez que as taxas de remoção de furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina foram menores em comparação com a taxa de remoção da glicose e sacarose, verificou-se que a membrana foi capaz de remover os inibidores da fermentação a partir de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose.

EXEMPLO 4

[082] A operação foi realizada da mesma forma como no Exemplo 1, exceto que a membrana de separação C foi usada como uma membrana de separação. A membrana de separação C teve uma taxa de remoção de álcool isopropílico de 62%, uma taxa de remoção de glicose de 99%, e um desempenho de permeação de $1,6 \text{ m}^3/\text{m}^2\text{d}$, e a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico foi de 37%. Além disso, o raio médio de poros da membrana de separação C, conforme mensurado por espectroscopia de vida média de pósitrons foi de 1,0 nm a 1,5 nm.

[083] Além disso, os resultados da avaliação realizada utilizando a solução aquosa modelo, estão resumidos na Tabela 1. Como pode ser visto na Tabela 1, a membrana de separação C apresentou alta taxa de remoção de glicose e sacarose, e verificou-se que não havia quase nenhuma saída da glicose e sacarose para o lado da permeação. Por outro lado, uma vez que as taxas de remoção de furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina foram menores em comparação com a taxa de remoção da glicose e sacarose, verificou-se que a

membrana foi capaz de remover os inibidores da fermentação a partir de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose.

EXEMPLO 5

[084] A operação foi realizada da mesma forma como no Exemplo 1, exceto que a membrana de separação D foi usada como uma membrana de separação. A membrana de separação D teve uma taxa de remoção de álcool isopropílico de 60%, uma taxa de remoção de glicose de 98,5%, e um desempenho de permeação de 1,7 m³/m²d, e a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico foi de 38,5%. Além disso, o raio médio de poros da membrana de separação D, conforme mensurado por espectroscopia de vida média de pósitrons foi de 1.0 nm a 1,7 nm.

[085] Além disso, os resultados da avaliação realizada utilizando a solução aquosa modelo, estão resumidos na Tabela 1. Como pode ser visto na Tabela 1, a membrana de separação D apresentou alta taxa de remoção de glicose e sacarose, e verificou-se que não havia quase nenhuma saída da glicose e sacarose para o lado da permeação. Por outro lado, uma vez que as taxas de remoção de furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina foram menores em comparação com a taxa de remoção da glicose e sacarose, verificou-se que a membrana foi capaz de remover os inibidores da fermentação a partir de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose.

EXEMPLO 6

[086] A operação foi realizada da mesma forma como no Exemplo 1, exceto que a membrana de separação E foi usada como uma membrana de separação. A membrana de separação E teve uma taxa de remoção de álcool isopropílico de 75%, uma taxa de remoção de glicose de 98%, e um desempenho de permeação de 0,9 m³/m²d, e a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico foi de 23%. Além disso, o raio médio

de poros da membrana de separação E, conforme mensurado por espectroscopia de vida média de pósitrons foi de 0,8 nm a 1,5 nm.

[087] Além disso, os resultados da avaliação realizada utilizando a solução aquosa modelo, estão resumidos na Tabela 1. Como pode ser visto na Tabela 1, a membrana de separação E apresentou alta taxa de remoção de glicose e sacarose, e verificou-se que não havia quase nenhuma saída da glicose e sacarose para o lado da permeação. Por outro lado, uma vez que as taxas de remoção de furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina foram menores em comparação com a taxa de remoção da glicose e sacarose, verificou-se que a membrana foi capaz de remover os inibidores da fermentação a partir de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose.

EXEMPLO 7

[088] A operação foi realizada da mesma forma como no Exemplo 1, exceto que a membrana de separação F foi usada como uma membrana de separação. A membrana de separação F teve uma taxa de remoção de álcool isopropílico de 32%, uma taxa de remoção de glicose de 90%, e um desempenho de permeação de 1,5 m³/m²d, e a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico foi de 58%. Além disso, o raio médio de poros da membrana de separação F, conforme mensurado por espectroscopia de vida média de pósitrons foi de 2,5 nm a 3,5 nm.

[089] Além disso, os resultados da avaliação realizada utilizando a solução aquosa modelo, estão resumidos na Tabela 1. Como pode ser visto na Tabela 1, a membrana de separação F apresentou alta taxa de remoção de glicose e sacarose, e verificou-se que não havia quase nenhuma saída da glicose e sacarose para o lado da permeação. Por outro lado, uma vez que as taxas de remoção de furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina foram menores em comparação com a taxa de remoção da glicose e sacarose, verificou-se que a

membrana foi capaz de remover os inibidores da fermentação a partir de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose.

EXEMPLO 8

[090] A operação foi realizada da mesma forma como no Exemplo 1, exceto que a membrana de separação G foi usada como uma membrana de separação. A membrana de separação G teve uma taxa de remoção de álcool isopropílico de 36%, uma taxa de remoção de glicose de 95%, e um desempenho de permeação de 1,3 m³/m²d, e a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico foi de 59%. Além disso, o raio médio de poros da membrana de separação G, conforme mensurado por espectroscopia de vida média de pósitrons foi de 2,5 nm a 3,5 nm.

[091] Além disso, os resultados da avaliação realizada utilizando a solução aquosa modelo, estão resumidos na Tabela 1. Como pode ser visto na Tabela 1, a membrana de separação G apresentou alta taxa de remoção de glicose e sacarose, e verificou-se que não havia quase nenhuma saída da glicose e sacarose para o lado da permeação. Por outro lado, uma vez que as taxas de remoção de furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina foram menores em comparação com a taxa de remoção da glicose e sacarose, verificou-se que a membrana foi capaz de remover os inibidores da fermentação a partir de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose.

EXEMPLO COMPARATIVO 1

[092] A operação foi realizada da mesma forma como no Exemplo 1, exceto que a UTC-70U (membrana de osmose reversa (RO) de poliamida reticulada fabricada pela Toray Industries, Inc.) foi utilizada como membrana de separação. A UTC-70U teve uma taxa de remoção de álcool isopropílico de 96,2%, uma taxa de remoção de glicose de 99,9%, e um desempenho de permeação de 0,7 m³/m²d, e a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico foi de 3,7%. Além disso, o raio médio de

poros da UTC-70U, mensurado por espectroscopia de vida média de pósitrons foi de 0,25 nm a 0,35 nm.

[093] Além disso, os resultados da avaliação realizada utilizando a solução aquosa modelo, estão resumidos na Tabela 1. Como pode ser observado na Tabela 1, a UTC-70U teve alta taxa de remoção de glicose e sacarose, porém as taxas de remoção de furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina também estavam elevadas. Portanto, verificou-se que é difícil para a membrana remover inibidores da fermentação a partir de um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose.

EXEMPLO COMPARATIVO 2

[094] A operação foi realizada da mesma forma como no Exemplo 1, exceto que a membrana de separação B foi usada como uma membrana de separação. A membrana de separação B teve uma taxa de remoção de álcool isopropílico de 1%, uma taxa de remoção de glicose de 29%, e um desempenho de permeação de 2,0 m³/m²d, e a diferença entre a taxa de remoção da glicose e a taxa de remoção de álcool isopropílico foi de 28%. Além disso, provavelmente porque o diâmetro dos poros da membrana de separação de B era muito grande, o raio médio de poros da membrana de separação de B não pode ser mensurado por espectroscopia de vida média de pósitrons.

[095] Além disso, os resultados da avaliação realizada utilizando a solução aquosa modelo, estão resumidos na Tabela 1. Como pode ser visto na Tabela 1, uma vez que a membrana de separação B teve baixa taxa de remoção de glicose e sacarose, verificou-se que um monossacarídeo e/ou um oligossacarídeo de uma pentose e/ou uma hexose fluiu por esta.

EXEMPLO 9

[096] Um componente do tipo espiral SU-620 (fabricado pela Toray Industries, Inc., com área de membrana de 28 m²) contendo a UTC-60 usada no Exemplo 1 como membrana de separação, foi adquirido, e este

componente do tipo espiral SU-620 foi usado para tratar 100 L de uma solução (1), contendo 1,0% em peso de glicose, 1000 ppm de furfural, 1000 ppm de 5-hidroximetilfurfural e 1000 ppm de vanilina a uma taxa de recuperação de 60%. Como resultado, 40 L de uma solução (2), contendo 2,4% em peso de glicose, 1150 ppm de furfural, 1.200 ppm de 5-hidroximetilfurfural e 1150 ppm de vanilina foi obtida. A água foi adicionada à solução (2) para ajustar a concentração de glicose para 1,0% em peso e, portanto, uma solução (3) contendo 480 ppm de furfural, 500 ppm do 5-hidroximetilfurfural e 480 ppm de vanilina foi obtida.

[097] A solução (3) foi tratada novamente usando o SU-620 a uma taxa de recuperação de 60%, e, como resultado, uma solução (4), contendo 2,4% em peso de glicose, 550 ppm de furfural, 600 ppm de 5-hidroximetilfurfural e 550 ppm de vanilina foi obtida. A água foi adicionada à solução (4) para ajustar a concentração de glicose para 1,0% em peso e, assim, uma solução (5) contendo 230 ppm de furfural, 250 ppm do 5-hidroximetilfurfural e 230 ppm de vanilina foi obtida.

[098] A solução (5) foi adicionalmente tratada usando o SU-620 a uma taxa de recuperação de 60%, e, como resultado, uma solução (6), contendo 2,4% em peso de glicose, 290 ppm de furfural, 310 ppm de 5-hidroximetilfurfural e 290 ppm de vanilina foi obtida. A água foi adicionada à solução (6) para ajustar a concentração de glicose para 1,0% em peso e, assim, uma solução (7) contendo 120 ppm de furfural, 130 ppm do 5-hidroximetilfurfural e 120 ppm de vanilina foi obtida.

[099] Uma solução (0) que continha apenas 1,0% em peso de glicose e não continha furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina foi preparada.

[0100] A razão para ajustar a concentração de glicose de cada solução para 1,0% em peso foi para avaliar as taxas de crescimento do bacilo de cólon e da levedura que será descrita a seguir, a uma concentração equivalente de glicose.

[0101] As medições das concentrações de glicose, furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina foram realizadas utilizando cromatografia líquida de alto desempenho. Ou seja, uma unidade de transporte de líquido por cromatografia líquida (LC-10AD, fabricado pela Shimadzu Corp) foi usada, e uma coluna de fase reversa disponível comercialmente (coluna ODS) e uma coluna de separação de açúcar disponível comercialmente (CAPCELL PAK NH2SG) foram utilizadas para realizar a separação. As respectivas concentrações foram mensuradas utilizando um refratômetro (RID-6A, fabricado pela Shimadzu Corp) ou um absorciômetro ultravioleta-visível (SPD-10A, fabricado pela Shimadzu Corp) como detectores.

[0102] As soluções (0), (1), (3) e (7) foram utilizadas como substrato, e as taxas de crescimento do bacilo de cólon e das leveduras foram avaliadas. Desse modo, o efeito das concentrações de furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina sobre a fermentação foi investigada.

[0103] As taxas de crescimento do bacilo de cólon e leveduras foram avaliadas pelo seguinte método.

[0104] O bacilo de cólon (*Escherichia coli* W3110) e as leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* NBRC2260) foram utilizados como microorganismos sob investigação. O bacilo de cólon e a levedura foram submetidos à cultura agitada (cultura geral) a 30 °C por 24 horas, com meio LB (triptona 1%, extrato de levedura 0,5% e cloreto de sódio 1%) para o bacilo de cólon e em meio YPD (2% de triptona, 1% de extrato de levedura e 2% de glicose) para a levedura. Como meio de avaliação, os meios de avaliação (0), (1), (3) e (7) foram preparados pela adição de efluente de milho para as soluções (0), (1), (3) e (7) para se obter uma concentração final de 5%, e ajustando as soluções para o pH 7. Para cada 50 mL desses meios de avaliação ((0), (1), (3) e (7)), 3 ml de efluente da cultura obtida após a cultura total foi adicionado, e as misturas foram submetidas à cultura sob agitação a 30 °C por 24 horas. O crescimento da

quantidade do bacilo de cólon e da levedura após 24 horas de cultura foi calculado medindo a absorbância a 600 nm (valor OD₆₀₀). Enquanto o valor OD₆₀₀ do bacilo de cólon ou da levedura após 24 horas no meio de avaliação (0) foi obtido como 100, as respectivas taxas de crescimento no meio de avaliação (1), (3) e (7) estão resumidas na Tabela 2.

[0105] Particularmente, o meio de avaliação (7), contendo concentrações de 120 a 130 ppm de furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina, apresentaram taxas de crescimento do bacilo de cólon e da levedura quase iguais às taxas de crescimento obtidas no meio de avaliação (0), que não contém furfural, 5-hidroximetilfurfural e vanilina, e, portanto, um efeito notável de remoção dos inibidores da fermentação foi observado.

TABELA 1-1

	Exemplo 1	Exemplo 2	Exemplo 3	Exemplo 4	Exemplo 5	
Tipo de Membrana de Separação	UTC-60	UTC-20	Membrana de Separação A	Membrana de Separação C	Membrana de Separação D	
Taxa de remoção de álcool isopropílico (%)	35	30	70	62	60	
Taxa de remoção de glicose (%)	95	84	99,5	99	98,5	
Taxa de remoção de glicose (%) - taxa de remoção de álcool isopropílico (%)	60	54	29,5	37	38,5	
Desempenho de permeação (m ³ /m ² d)	1,1	0,8	1,3	1,6	1,7	
Solução aquosa modelo	Taxa de remoção de glicose (%)	92	80	99	98,5	97
	Taxa de remoção da sacarose (%)	99	88	99,9	99,9	99
	Taxa de remoção de furfural (%)	9	10	90	83	80
	Taxa de remoção de 5-hidroximetilfurfural (%)	13	12	93	89	86
	Taxa de remoção da vanilina (%)	10	10	90	84	82
Raio médio de poros com base no método de mensuração por espectroscopia de vida média de pósitrons (nm)	2,5-3,5	3,5-4,0	0,8-1,0	1,0-1,5	1,0-1,7	

TABELA 1-2

	Exemplo 6	Exemplo 7	Exemplo 8	Exemplo Comparativo 1	Exemplo Comparativo 2
Tipo de Membrana de Separação	Membrana de Separação E	Membrana de Separação F	Membrana de Separação G	UTC-70U	Membrana de Separação B
Taxa de remoção de álcool isopropílico (%)	75	32	36	96,2	1

	Exemplo 6	Exemplo 7	Exemplo 8	Exemplo Comparativo 1	Exemplo Comparativo 2	
Taxa de remoção de glicose (%)	98	90	95	99,9	29	
Taxa de remoção de Glicose (%) - taxa de remoção de álcool isopropílico (%)	23	58	59	3,7	28	
Desempenho de permeação (m ³ /m ² d)	0,9	1,5	1,3	0,7	2	
Solução aquosa modelo	Taxa de remoção de glicose (%)	97	87	89	99,9	28
	Taxa de remoção da sacarose (%)	99	95	97	99,9	33
	Taxa de remoção de furfural (%)	86	7	8	99,9	0
	Taxa de remoção de 5-hidroximetilfurfural (%)	90	8	10	99,9	0
	Taxa de remoção da vanilina (%)	90	8	11	99,9	0
Raio médio de poros com base no método de mensuração por espectroscopia de vida média de pósitrons (nm)	0,8-1,5	2,5-3,5	2,5-3,5	0,25-0,35	Não mensurável	

TABELA 2

Meio de Avaliação	(1)	(3)	(7)	(0)
Solução	(1)	(3)	(7)	(0)
Concentração de Glicose (% em peso)	1,0	1,0	1,0	1,0
Concentração de furfural (ppm)	1000	480	120	0
Concentração de 5-hidroximetilfurfural (ppm)	1000	500	130	0
Concentração de vanilina (ppm)	1000	480	120	0
Taxa de crescimento do bacilo de cólon (-)	5	18	92	100
Taxa de crescimento da levedura (-)	23	62	96	100

APLICABILIDADE INDUSTRIAL

[0106] O método de produção de um composto proveniente de uma biomassa a base de polissacarídeo da presente invenção pode ser adequadamente utilizado quando sacarídeos são produzidos pelo uso de uma

biomassa a base de polissacarídeo como matéria-prima, e quando os sacarídeos assim obtidos são convertidos em produtos químicos pela fermentação.

REIVINDICAÇÕES

1. MÉTODO PARA REMOVER INIBIDORES DE FERMENTAÇÃO DE UMA BIOMASSA A BASE DE POLISSACARÍDEOS, caracterizado por compreender:

pelo menos uma etapa de sacarificação que produz uma solução de açúcar contendo 1) um monossacarídeo e um oligossacarídeo ou 2) um monossacarídeo ou 3) um oligossacarídeo a partir de um produto que pode ser obtido pela hidrólise da biomassa a base de polissacarídeos;

uma etapa de fermentação que fermenta a solução de açúcar contendo 1) o monossacarídeo e oligossacarídeo ou 2) o monossacarídeo ou 3) o oligossacarídeo proveniente da biomassa a base de polissacarídeos; e

uma etapa de tratamento que remove um inibidor da fermentação selecionado do grupo que consiste em furfural, 5-hidroximetilfurfural, vanilina, guaiacol, ácido acético e ácido fórmico com o uso de uma membrana de nanofiltração compreendendo pelo menos uma selecionada dentre o grupo que consiste em uma membrana de nanofiltração de poliéster, uma membrana de nanofiltração de polímero de vinil, uma membrana de nanofiltração de acetato de celulose e uma membrana de filtração de poliamida, que possui uma taxa de remoção da glicose e uma taxa de remoção de álcool isopropílico que satisfazem simultaneamente as relações (I) e (II), quando uma solução aquosa de glicose de 0,5 kg/m³ (500 ppm) em pH 6,5 a 25°C e uma solução aquosa de álcool isopropílico de 0,5 kg/m³ (500 ppm) em pH 6,5 a 25°C são, respectivamente, permeadas através da membrana a uma pressão de operação de 0,5 MPa, em uma etapa anterior à etapa de fermentação:

(I) Taxa de remoção da glicose \geq 80%,

(II) Taxa de remoção de glicose - taxa de remoção de álcool isopropílico \geq 20%.

2. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado

pelo tratamento para a remoção de um inibidor de fermentação com o uso de uma membrana de nanofiltração permitir a remoção do inibidor de fermentação e a concomitante concentração de qualquer um entre celulose, hemicelulose, monossacarídeo e/ou oligossacarídeo.

3. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por um tratamento adicional para a concentração do composto com o uso de uma membrana de osmose reversa poder ser realizado após o tratamento para remoção de um inibidor de fermentação com o uso de uma membrana de nanofiltração, e antes da etapa de fermentação.

4. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo tratamento para a remoção de um inibidor de fermentação com o uso de uma membrana de nanofiltração ser realizado uma ou mais vezes de modo a obter um teor do inibidor de fermentação na solução de açúcar obtida imediatamente antes da etapa de fermentação na faixa de 500 ppm ou menos.

5. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela membrana de nanofiltração possuir poros com um raio médio de poro medido por espectroscopia de vida média de pósitrons de 0,8 nm a 4,0 nm.

6. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo raio médio de poro ser de 2,5 nm a 4,0 nm.