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

(11) PI 0923405-5 B1

(22) Data do Depósito: 16/12/2009

(45) Data de Concessão: 17/07/2018

(54) Título: CONVERSÃO DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA.

(51) Int.Cl.: C12P 5/00; C12P 7/00; C12P 7/08; C12P 7/12

(30) Prioridade Unionista: 17/12/2008 EP 08 021952.0, 17/12/2008 US 61/138,378, 22/10/2009 EP 09 013355.4
(73) Titular(es): BORREGAARD INDUSTRIES LIMITED NORGE

(72) Inventor(es): ANDERS SJOEDE; ANDERS FROELANDER; MARTIN LERSCH; GUDBRAND RODSRUD

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"CONVERSÃO DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA".**

A presente invenção refere-se a um processo para a produção de biocombustíveis de segunda geração e/ou produtos químicos com base em açúcar – por exemplo etanol, butanol etc. – e/ou materiais – por exemplo plásticos, proteínas celulares únicas etc. – junto com lignina sulfonada (lignossulfonato) a partir de biomassa lignocelulósica, em particular a partir de biomassa lignocelulósica compreendendo, entre outros, safras de energia, plantas anuais, resíduo agrícola ou madeira.

Em particular, a presente invenção refere-se a um processo para a produção de monossacarídeos, produtos químicos com base em açúcar, biocombustíveis ou materiais junto com lignina sulfonada a partir de biomassa lignocelulósica compreendendo pelo menos as seguintes etapas:

(i) pré-tratamento de uma biomassa lignocelulósica em uma etapa de cozimento com sulfito;

(ii) separação da biomassa lignocelulósica pré-tratada da etapa (i) em

(a) uma fase líquida de "licor de sulfito gasto" compreendendo 50% ou mais da lignina da biomassa lignocelulósica na forma de lignina sulfonada, e em

(b) uma polpa compreendendo 70% ou mais da celulose da biomassa lignocelulósica;

(iii) hidrólise da polpa (b) da etapa (ii) em uma plataforma química do açúcar compreendendo monossacarídeos;

(iv) opcionalmente processamento adicional dos monossacarídeos da etapa (iii) resultando em produtos químicos, biocombustíveis e/ou proteínas úteis; e

(v) conversão direta ou processamento adicional da lignina sulfonada da fase líquida (a) da etapa (ii) em produtos químicos e/ou materiais úteis.

Fundamentos e Técnica Anterior

Como é geralmente aceito, os recursos para produtos químicos

com base em petróleo e para petróleo usado como combustível (fóssil) são limitados. Um recurso alternativo presentemente usado é o *"biocombustível"* como obtido a partir da biomassa. Várias fontes de biomassa podem ser usadas.

"Biocombustíveis de primeira geração" são biocombustíveis fabricados de açúcar, amido, óleo vegetal, ou gorduras animais usando tecnologia convencional. Estoques de alimentação básicos exemplares para a produção de biocombustíveis de primeira geração são sementes ou grãos tais como trigo, que produz o amido que é hidrolisado e fermentado em bioetanol, ou sementes de girassol, que são prensadas para produzir óleo vegetal que pode ser transformado em biodiesel. Entretanto, estes estoques de alimentação podem ao contrário entrar na cadeia alimentar animal ou humana. Portanto, biocombustíveis de primeira geração foram criticados por desviar alimentos para longe da cadeia alimentar humana, levando à faltas de alimentos e aumentos de preço.

Ao contrário, *"biocombustível de segunda geração"* pode ser produzido sustentavelmente usando-se biomassa compreendida das partes não alimentícias residuais (isto é, não digeríveis) de safras correntes, tais como caules, folhas, bagaço (resíduo da fibra de cana-de-açúcar), cascas etc. que são abandonados uma vez que a safra alimentícia foi extraída, assim como outro estoque de alimentação que não é usado para propósitos alimentares (safras não alimentícias), tais como madeira, plantas anuais e cereais que compreendem pouco grão, e também resíduo industrial tal como serragem, cascas e polpa da prensagem de frutas, processamento do vinho etc.

Um problema comum em produzir biocombustíveis de segunda geração a partir da biomassa é a extração de estoque de alimentação fermentável da biomassa "de madeira" ou fibrosa. Em particular, os carboidratos que podem ser hidrolisados e fermentados (em particular celulose e, se presente, hemicelulose) são misturados com lignina (consequentemente, no seguinte, tal biomassa será referida como *"biomassa lignocelulósica"*).

Lignina é um polímero heterogêneo complexo que não pode ser

submetido ao ciclo de hidrólise/fermentação aplicado à celulose/hemicelulose. Lignina como comumente produzida não é uma substância particularmente útil e é tipicamente descartada ou queimada (gerando algum benefício como calor de processo) depois da separação. Em uma biorrefinaria eficiente futura, todos os componentes principais de lignocelulose não apenas precisam ser separados mas também todos têm que ser utilizados. Os carboidratos podem ser usados como uma plataforma para produtos químicos com base em açúcar, por exemplo, etanol.

O pré-tratamento (antes da hidrólise) do material lignocelulósico é convencionalmente obtido por meio de aquecimento a vapor, explosão a vapor ou pré-tratamento enzimático, entre outros.

Um processo contínuo para tratar um estoque de alimentação lignocelulósico é fornecido em WO 2006/128304. Este método compreende pré-tratar o estoque de alimentação lignocelulósico sob pressão em um reator de pré-tratamento em um pH entre cerca de 0,4 e cerca de 2,0. Um parte menor da lignina será dissolvida sob condições ácidas como esta, mas a maioria da fração de lignina da biomassa deste processo não será solúvel em água, e será separada junto com outros insolúveis.

Um outro método de converter o material lignocelulósico é descrito em US 6 423 145. Um método com ácido diluído modificado de hidrolisar a celulose e hemicelulose em material lignocelulósico sob condições para obter rendimentos de açúcar fermentável globais mais altos do que é obtenível usando ácido diluído sozinho, compreendendo: impregnar um estoque de alimentação lignocelulósico com uma mistura de uma quantidade de solução aquosa de um catalisador de ácido diluído e um catalisador de sal metálico suficiente para fornecer rendimentos de açúcar fermentável globais mais altos do que é obtenível quando da hidrólise com ácido diluído sozinho; carregar o estoque de alimentação lignocelulósico impregnado em um reator e aquecer durante um período de tempo suficiente para hidrolisar substancialmente toda a hemicelulose e mais do que 45% da celulose a açúcares solúveis em água; e recuperar os açúcares solúveis em água. Este processo produz ligninas insolúveis que podem ser separadas junto com a biomassa

não hidrolisada e outros insolúveis.

Um método mais recente de pré-tratamento é descrito em US 2008/0190013. US '013 divulga um método para converter o material lignocelulósico em biocombustível. Em formas de realização particulares, o método compreende pré-tratar o material lignocelulósico dissolvendo-se o material em líquidos iônicos. O material lignocelulósico pré-tratado pode ser isolado, tal como por precipitação com um solvente regenerado (por exemplo, água), e ser usado diretamente na formação do biocombustível, incluindo passar por hidrólise para formar açúcar e fermentação para formar combustível, tal como bioetanol. O líquido iônico pode ser reciclado para uso adicional, tal como por evaporação da água introduzida durante a precipitação, e a reciclagem fornece uma via para uma fração rica em hemicelulose e um líquido iônico de qualidade consistente e características de dissolução de madeira. As hemiceluloses recuperadas são de potencial de utilização significante para aplicações de comodidade e especialidade. Este processo também produz ligninas insolúveis em água.

A Patente Sueca nº 527 646 propõe um processo para a produção de combustíveis para motores e células de combustível a partir de material lignocelulósico. A lignina é dissolvida do material lignocelulósico por um cozimento, preferivelmente por um cozimento com soda. O licor de cozimento é gaseificado para produzir gás de síntese e subsequentemente metanol, DME etc., enquanto a celulose e a hemicelulose na polpa são hidrolisadas por ácido (fraco ou forte) ou enzimas e depois fermentado a etanol.

Um artigo de J.Y. Zhu *et al.* ("Sulfite Pretreatment (SPORL) for robust enzymatic saccharification of spruce and red pine"; Bioresource Technology 100 (2009) 2411-2418) publicada online em 31 de Dezembro de 2008 relata o pré-tratamento de sulfito para superar recalcitrância da lignocelulose para a bioconversão eficiente de madeiras moles.

De modo a chegar a um processo onde a conversão da biomassa de segunda geração a biocombustíveis é realizada em uma maneira econômica e sustentável, vários desafios precisam ser tratados.

O componente de lignina é usualmente queimado, entretanto é

desejável ser capaz de converter a lignina a produtos químicos valiosos de valor comercial. Entretanto, ligninas de muitos dos processos são impuras e são deficientemente solúveis em água o que as tornam difíceis para processar ainda em produtos químicos valiosos.

As ligninas na biomassa são conhecidas adsorver enzimas celulíticas e deste modo tendo um efeito inibidor nas enzimas usadas para hidrolisar celulose a celobiose e glicose. Isto substancialmente aumenta as quantidades das enzimas necessárias. Além disso, a complexidade da mistura enzimática necessária é substancial visto que as fibras de celulose ainda são embutidas tanto em lignina quanto em hemicelulose. O custo das enzimas portanto é um desafio principal em biomassa para processos de biocombustível além de rendimento total baixo de produtos. Infelizmente, todos os processos de pré-tratamento conhecidos deixam ligninas que estão inibindo estas enzimas, mesmo quando reduzidos a níveis baixos (abaixo de 5%).

A reciclagem das enzimas também é difícil visto que as enzimas são não especificamente ligadas à lignina na etapa do processo de hidrólise.

Um outro desafio da produção de bioetanol de segunda geração a partir de um ponto de vista comercial é o rendimento global baixo de produtos químicos valiosos e em particular para fornecer produtos químicos valiosos de um valor mais alto do que o valor de energia de xilana e lignina.

À luz da técnica anterior, um processo para converter biomassa lignocelulósica é procurado que melhor prepara a celulose para hidrólise assim como leva em consideração um uso mais completo da biomassa em fornecer um rendimento mais alto nos produtos químicos de desempenho e/ou biocombustível.

Estes objetivos e outros são resolvidos por um processo para a produção de monossacarídeos, produtos químicos com base em açúcar ou biocombustíveis ou materiais junto com lignina sulfonada a partir de biomassa lignocelulósica compreendendo pelo menos as seguintes etapas:

(i) pré-tratamento de uma biomassa lignocelulósica em uma etapa de cozimento com sulfito;

(ii) separação da biomassa lignocelulósica pré-tratada da etapa (i) em

(a) uma fase líquida de "licor de sulfito gasto" compreendendo 50% ou mais da lignina da biomassa lignocelulósica na forma de lignina sulfonada, e em

(b) uma polpa compreendendo 70% ou mais da celulose da biomassa lignocelulósica;

(iii) hidrólise da polpa (b) da etapa (ii) em uma plataforma química do açúcar compreendendo monossacarídeos;

(iv) opcionalmente processamento adicional dos monossacarídeos da etapa (iii) resultando em produtos químicos, biocombustíveis e/ou proteínas úteis; e

(v) conversão direta ou processamento adicional da lignina sulfonada da fase líquida (a) da etapa (ii) em produtos químicos e/ou materiais úteis.

Em uma forma de realização preferida e com base no tipo de biomassa lignocelulósica bruta, uma etapa de tratamento mecânico (0) pode ser realizada antes da etapa (i). Na dita etapa de tratamento mecânico, a biomassa é dividida em pedaços menores ou partículas por tratamento mecânico. Esta etapa é obsoleta, por exemplo, no caso do uso de bagaço como uma matéria-prima.

Na etapa de pré-tratamento (i), a biomassa lignocelulósica é cozida com um sulfito, preferivelmente um sulfito de sódio, cálcio, amônio ou magnésio sob condições ácidas, neutras ou básicas. Esta etapa de pré-tratamento dissolve a maioria da lignina como lignossulfonato junto com partes da hemicelulose. Esta fase dissolvida ou líquida (licor da formação de polpa; também conhecido como "Licor de sulfito gasto", "SSL") é a fase de SSL líquida (a) da etapa (ii). a celulose é deixada quase intacta na polpa (b) junto com partes da hemicelulose.

Tratando-se a biomassa lignocelulósica de acordo com o processo descrito acima, uma plataforma de biorrefinaria particularmente eficiente é gerada.

Utilizando-se especificamente um cozimento com sulfito como a etapa de pré-tratamento no processo global, uma boa separação dos carboidratos celulose e hemicelulose da lignina é obtida. A polpa resultante é particularmente fácil para hidrolisar devido à modificação durante o cozimento, levando a custo reduzido de sacarificação.

O teor da lignina residual, não solubilizada na polpa que é remanescente depois do tratamento inventivo é descoberto não ser de nenhuma importância significante para como facilmente a celulose pode ser hidrolisada por enzimas. Isto é altamente surpreendente e diferente do que foi relatado mais no início, ver Mooney C.A. *et al.*,1998, "The efect of the initial pore volume and lignin content on the enzymatic hydrolysis of softwood", Biores. Technol. 64, 2, 113-119 e Lu Y. *et al.*, 2002, "Celulase adsorption and an evaluation of enzyme recycle during hydrolysis of steam-exploded softwood residues", Appl. Biochem. Biotechnol. 98-100, 641-654.

Sem desejar estar ligado pela teoria, uma pessoa pode assumir que o pré-tratamento com sulfito altera a lignina em um modo que reduz ou remove seu efeito inibitório e deste modo torna o rendimento de hidrólise alto em um consumo de enzima baixo possível.

Esta propriedade não inibitória da lignina residual também torna mais fácil recircular as enzimas por exemplo, por adsorção de substrato ou filtração de membrana e torna o uso de enzimas de vida longa mais interessante e o processo global mais econômico.

Além disso, um rendimento muito mais alto de produtos comercializáveis é atingido comparado a outros processos, principalmente devido ao isolamento e utilização de um produto de lignina comercializável, especialmente lignossulfonato.

Praticando-se o processo de acordo com a invenção, mais do que 80% em peso do estoque de alimentação de biomassa lignocelulósica podem ser transformados em produtos comercializáveis e rendimentos de até 90% da quantidade teórica de açúcares fermentáveis são obteníveis. Uma forma de realização do processo global integrado é mostrada exemplarmente na Figura 1 e é descrita em mais detalhe abaixo.

Consequentemente, os principais benefícios do presente processo compreendem:

• Lignina é convertida de uma forma insolúvel para uma forma solúvel em água que facilita a separação fácil de ligninas solúveis em água com propriedades surpreendentemente superiores como produtos químicos de desempenho e na produção de produtos químicos de lignina puros.

• Além disso, a celulose na polpa é facilmente degradada por enzimas como explicado acima e leva o consumo enzimático e custos a um nível aceitável. Acredita-se que isto seja devido ao fato de que durante a etapa de cozimento com sulfito, as fibras de celulose são separadas e não são mais embutidas em lignina e hemiceluloses. Também, a lignina deixada na polpa contendo celulose depois do pré-tratamento com sulfito é menos inibitória às enzimas do que a lignina nativa na etapa de processamento a jusante da hidrólise enzimática. Este efeito foi completamente inesperado.

• Visto que enzimas evidentemente não são adsorvidas irreversivelmente à lignina deixada na polpa de celulose exposta à etapa de hidrólise, as enzimas também podem ser recicladas. Isto reduz adicionalmente o consumo enzimático e deste modo os custos do processo.

Breve Descrição das Figuras

A Figura 1 é uma folha de fluxo de um conceito de biorrefinaria preferido de acordo com a presente invenção.

A Figura 2 é uma folha de fluxo de uma forma de realização preferida adicionalmente usando deslignificação com oxigênio e/ou álcali.

A Figura 3 mostra os resultados de hidrólise enzimática dos cozimentos com soda I e II do Exemplo comparativo I [correlação entre o número capa (lignina residual) e rendimento de glicose (digestibilidade)].

A Figura 4 mostra a comparação das polpas com tratamento com sulfito e cozimento com soda durante a hidrólise enzimática com Celluclast.

Descrição Detalhada da Presente Invenção

Matérias-primas

A respeito da matéria-prima para a biomassa lignocelulósica,

nenhuma limitação principal existe, exceto que a biomassa deve compreender celulose e lignina. Matérias-primas preferidas que são adequadas para o presente conceito de biorrefinaria são safras de energia, plantas anuais, resíduos agrícolas e madeira.

Safras de energia comerciais são tipicamente espécies de safras densamente plantadas, de rendimento alto que são preferivelmente de nenhum valor ou de valor limitado como alimentos. Por exemplo, safras de madeira tais como Salix, Miscanthus, Willow ou Poplar são safras de energia preferidas.

Exemplos preferidos de plantas anuais são palha, cana-de-açúcar e mandioca. Elas todas crescem rápido e geralmente têm uma quantidade relativamente baixa de lignina (comparado à madeira).

Resíduos agrícolas incluem aquelas partes de safras aráveis não para serem usadas para o propósito primário de produzir alimento, ração ou fibras, por exemplo usado forragem para animais e plumagem. Estes resíduos são exemplificados por bagaço da cana-de-açúcar e talo de milho.

O material de partida particularmente preferido da cana-de-açúcar pode ser dividido em bagaço, açúcar e palha. Bagaço é um material fibroso consistindo em celulose, hemicelulose, lignina, extrativos, sais inorgânicos e outras substâncias orgânicas tais como proteínas e ácidos orgânicos.

Bagaço e madeira dura têm muitas similaridades, isto é, alto teor de xilana, comprimento da fibra mais curto e teor de lignina e celulose mais baixo comparado à madeira mole. Entretanto bagaço tem um teor de cinzas levemente mais alto. O teor de cinzas pode ser explicado por diferenças na morfologia da planta e método de colheita. O comprimento da fibra curto no bagaço é principalmente devido ao seu alto teor de cerne (~30%).

Especialmente, com base no fato de que nenhuma redução de tamanho mecânica pode ser necessária e que rendimentos de hidrólise mais altos são obtidos, é particularmente preferido conduzir o processo de acordo com a presente invenção com resíduos agrícolas que não de madeira, em particular bagaço, como matérias-primas.

Madeira é também um material para o presente conceito de biorrefinaria. Neste, todos os tipos de madeira são adequados.

A biomassa lignocelulósica é (pré)tratada antes da hidrólise e processamento adicional dos monossacarídeos e outros componentes. Um (pré)tratamento pode ser mecânico ou químico.

No (pré)tratamento mecânico, força viva ou energia é transferida na matéria-prima, por exemplo por meio de dividir ou cortar ou sorvar a biomassa em partículas menores. Neste, nenhum reagente químico é adicionado e a estrutura química dos componentes da matéria-prima permanece essencialmente não afetada.

No (pré)tratamento químico, pelo menos um reagente químico é adicionado e a estrutura química de pelo menos um componente da matéria-prima é alterada. Como será debatido em mais detalhe abaixo, "formação de polpa com sulfito" é um pré-tratamento químico.

Tratamento mecânico

Com base no tipo de biomassa lignocelulósica bruta, uma etapa de tratamento mecânico (0) pode ser realizada antes da etapa (i). Na dita etapa de tratamento mecânico, a biomassa é dividida em pedaços menores ou partículas por tratamento mecânico. Esta etapa é obsoleta, por exemplo, no caso bagaço ou serragem é usado como uma matéria-prima.

Portanto, em uma forma de realização preferida, uma matéria-prima é usada na conversão de biomassa lignocelulósica que não requer (pré)tratamento mecânico e em que cozimento com sulfito é o único (pré)tratamento.

Pré-tratamento: Formação de polpa com sulfito

Formação de polpa (ou cozimento) da madeira com sulfito foi um dos primeiros métodos químicos usados na formação de polpa de madeira já no ano de 1860.

O primeiro moinho de polpa usando o processo com sulfito foi construído na Suécia em 1874 e usou magnésio como o contra-íon. Cálcio tornou-se o contra-íon padrão até o ano de 1950. A formação de polpa com sulfito foi o processo dominante para fabricar polpa de madeira até que ele

fosse superado pelo assim chamado processo de "Kraft" no ano de 1940. A predominância da formação de polpa por Kraft é fundamentada no fato de que o processo com sulfito é tipicamente realizado sob condições que hidrolisam um pouco da celulose, o que significa que as fibras da polpa de sulfito não são tão fortes como as fibras da polpa de Kraft, que é uma desvantagem particular da formação de polpa com sulfito para a aplicação predominante da formação de polpa de papel. Polpas de sulfito agora respondem por menos do que 10% da produção de polpa química total. Estas polpas de sulfito remanescentes são usadas para aplicações em papel de especialidade e (por exemplo na forma da assim chamada "polpa de dissolução") para fabricar derivados de celulose.

Diferentemente do processo de Kraft com base em sódio que é realizado em um pH do licor de cozimento fresco de cerca de 13, o processo com sulfito é caracterizado em que ele abrange a faixa de pH total. O pH pode variar de < 1 (usando soluções de dióxido de enxofre em água) a > 13 (usando dióxido de enxofre ou sulfito de sódio ou bissulfito de sódio junto com hidróxido de sódio).

Cozimento com sulfito pode ser dividido em quarto grupos principais: formação de polpa de sulfito com ácido, bissulfito ácido, substância alcalina fraca e substância alcalina.

Uma outra vantagem particular do pré-tratamento com sulfito refere-se à lignina que é de interesse particular na estrutura da presente invenção.

Em seu estado natural a lignina é insolúvel em água e hidrofóbica. Quando reagida com sulfito, a lignina é convertida à lignina sulfonada (lignossulfonatos) que tem propriedades drasticamente diferentes do que a lignina. A introdução de grupos ácido sulfônico em lignina muda o polímero de um composto neutro a um anionicamente inativo a um dos ácidos orgânicos mais fortes conhecidos, com uma constante de dissociação de 0,3. Contrário à lignina que ocorre naturalmente, lignina sulfonada como tal são produtos químicos de desempenho úteis ou podem ser convertidos em produtos químicos/materiais comercialmente viáveis. A conversão de lignina do pre-

sente processo não é obtida em nenhum outro dos processos de pré-tratamento conhecidos, em particular não nos processos de pré-tratamento conhecidos no contexto da conversão de biomassa. O presente processo portanto leva em consideração produzir produtos químicos de desempenho valiosos (lignina sulfonada) a partir da biomassa lignocelulósica e em particular a partir de biomassa que não com base em madeira, por exemplo, caules, bagaço ou plantas anuais.

Na etapa de pré-tratamento (i) da presente invenção, a biomassa lignocelulósica é cozida com um sulfito, preferivelmente um sulfito de sódio, cálcio, amônio ou magnésio sob condições ácidas, neutras ou básicas. Esta etapa de pré-tratamento dissolve a maioria da lignina como lignina sulfonada (lignossulfonato) junto com partes da hemicelulose. Esta fase dissolvida ou líquida (licor da formação de polpa) é a fase de SSL líquida (a) da etapa (ii). A celulose é deixada quase intacta na polpa (b) junto com partes da hemicelulose.

O uso de cozimento com sulfito como uma etapa de pré-tratamento na produção de combustíveis ou produtos químicos a partir de açúcares fermentáveis é muito eficiente visto que ele leva a rendimentos globais mais altos de produtos químicos. Em essência, um rendimento mais alto (> 80%) de produtos químicos úteis é obtido do que em qualquer outra tecnologia de biorrefinaria de plataforma de açúcar conhecida.

Em particular, custos mais baixos para a hidrólise são obtidos com base em um pré-tratamento que separa a celulose eficientemente dos outros constituintes, em particular lignina, em uma etapa.

O fato de que a polpa de celulose que resulta do pré-tratamento de etapa única é particularmente baixa em impurezas, em particular lignina, torna mais fácil desenvolver ou adaptar enzimas para a hidrólise.

Também, a etapa de pré-tratamento com sulfito da presente invenção leva em consideração a flexibilidade aumentada em manejar o processo (pH de 1 a 13) e em termos de fase esta em que a hemicelulose termina (isto é, se a hemicelulose está predominantemente na fase de SSL líquida ou predominantemente na polpa de celulose). A etapa de pré-

tratamento com sulfito também resulta em flexibilidade aumentada em termos da forma (monomérica/polimérica) esta em que a hemicelulose termina.

O pré-tratamento com sulfito de acordo com a presente invenção pode ser realizado de acordo com uma das formas de realização preferidas seguintes. Nesta e por toda a presente divulgação, o "pré-tratamento com sulfito" também é referido como "cozimento":

- cozimento com ácido (preferivelmente SO_2 com um hidróxido, mais preferivelmente com $Ca(OH)_2$, NaOH, NH_4OH ou $Mg(OH)_2$),
- cozimento com bissulfito (preferivelmente SO_2 com um hidróxido, mais preferivelmente com NaOH, NH_4OH ou $Mg(OH)_2$),
- cozimento com substância alcalina fraca (preferivelmente Na_2SO_3, mais preferivelmente com Na_2CO_3) e
- cozimento com substância alcalina (preferivelmente Na_2SO_3 com um hidróxido, mais preferivelmente com NaOH).

Uma correlação existe entre o pH utilizado durante o cozimento e o número capa da polpa produzida, em particular valores de pH altos levam a números capa baixos. O número capa é uma indicação do teor de lignina ou capacidade de alvejamento da polpa. O número capa refere-se ao teor de lignina da polpa e pode ser usado para monitorar a efetividade da fase de extração de lignina do processo de formação de polpa. O número está tipicamente na faixa de 1 a 100 para uma polpa e é estabelecido medindo-se a quantidade de uma solução de permanganato de potássio padrão que é consumida pela polpa sendo considerada. Detalhes sobre como o número capa é determinado são fornecidos em ISSO 302:2004.

Para cada tipo de cozimento, o impacto de várias variáveis de cozimento tais como temperatura, tempo, razão de líquido para sólido e quantidade de produtos químicos de cozimento pode ser usado para afetar a composição e propriedades da polpa, em particular teor de lignina e teor de hemicelulose na fase de polpa e na fase de SSL líquida, respectivamente (ver a Figura 1: fase de "Polpa" e "SSL" fase de SSL líquida).

Cozimentos com ácido resultam em polpas com um teor de lignina residual relativamente alto (15 a 40%) na fase de polpa (números capa

de 50 a 100). cozimentos com sulfito ácido além disso resultam em ligninas sulfonadas tendo um grau alto de sulfonação. O peso molecular da lignina sulfonada também é mais alto comparado com cozimentos com sulfito com substância alcalina. Durante o cozimento com sulfito com ácido, os polissacarídeos são parcialmente degradados, principalmente por hidrólise das ligações glicosídicas. A hemicelulose é mais sensível à hidrólise do que a celulose. Entretanto, contrário à fabricação de papel, esta hidrólise parcial de (hemi)celulose pode ser vantajosa em uma biorrefinaria onde a (hemi)celulose potencialmente precisa ser hidrolisada e quebrada de qualquer maneira.

Uma grande parte (70% ou mais) da hemicelulose (principalmente presente como xilana) é hidrolisada a monossacarídeos, principalmente à xilose, durante o cozimento e é dissolvida no licor de cozimento, isto é, na fase de SSL líquida.

Portanto, de acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, um cozimento com ácido é realizado como a etapa de pré-tratamento (i), em que 70% ou mais da hemicelulose global da biomassa lignocelulósica é hidrolisada à xilose na etapa (i) e está presente na fase de SSL líquida (b) na etapa (ii), isto é, o SSL que é separado da polpa de celulose na etapa (ii).

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com ácido, mais preferivelmente um cozimento com ácido em que a temperatura está na faixa de 125°C a 160°C. cozimentos em temperaturas mais altas resultam em rendimentos de polpa mais baixos e degradação mais extensiva dos monossacarídeos nos SSLs. Portanto, é preferido manter a temperatura do cozimento com ácido em ou abaixo de 160°C.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com ácido e o cozimento é realizado durante um intervalo de tempo de 60 a 300 minutos.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com ácido e

a razão de líquido-para-sólido é de 3:1 a 10:1.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com ácido e a quantidade de SO_2 é de 10 a 60% p/p, enquanto a quantidade de base (íon de hidróxido) é de 1 a 10% p/p, preferivelmente de 2% a 7%. A menos que indicado de outro modo, "p/p" refere-se a "% em peso" do componente no licor de trabalho ao peso de matéria-prima seca.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com ácido e o hidróxido utilizado é selecionado do grupo consistindo em NaOH, $Ca(OH)_2$, $Mg(OH)_2$, NH_4OH. Cozimentos com sódio geralmente fornecem números capa mais baixos do que cozimentos com cálcio.

Cozimentos com bissulfito produzem resultados similares como os cozimentos com ácido mas geralmente levam a menos degradação de carboidrato, rendimentos de SSL mais altos e, em temperaturas acima de 150°C, números capa mais baixos.

No cozimento com bissulfito, a xilana dissolvida nos SSLs é hidrolisada à xilose apenas a um menor grau (menos do que 40%).

Com referência a cozimentos com bissulfito, as mesmas faixas preferidas aplicam-se para a temperatura, o intervalo de tempo e a razão de líquido-para-sólido como divulgado acima para cozimentos com ácido.

Polpas alcalinas e neutras como debatido abaixo em geral são mais brilhantes e mais facilmente desidratadas do que as polpas de bissulfito ácido.

Cozimentos com substância alcalina resultam em polpas com quantidades mais baixas de lignina residual (> 80% da lignina dissolvida na fase de SSL, capa ~10) e teores de xilana mais altos (< 50% dissolvidos no licor de cozimento). A xilana dissolvida nos SSLs é essencialmente não hidrolisada à xilose.

Portanto, de acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, um cozimento com substância alcalina é realizado como a etapa de pré-tratamento (i), em que 80% ou mais da lignina global da bio-

massa lignocelulósica está presente na fase de SSL líquida (b), isto é, o SSL que é separado da polpa de celulose na etapa (ii). Cargas de substância alcalina aumentadas tipicamente resultam em polpas com números capa mais baixos.

Na formação de polpa com sulfito alcalino, hidróxido de sódio e sulfito de sódio são preferivelmente usados como reagentes. A formação de polpa com sulfito alcalino combina dois reagentes de deslignificação fortes, íons de sulfito e íons de hidróxido, resultando assim em um processo de deslignificação eficiente. A lignina sulfonada da formação de polpa com sulfito alcalino terá um peso molecular mais baixo e possivelmente será menos sulfonada, devido à eficiência reduzida do íon de sulfito com pH aumentado e efeito aumentado dos íons de hidróxido. Hemiceluloses podem ser removidas através de dissolução, isto é, até 50% da xilana podem ser dissolvidos durante um cozimento com substância alcalina. Entretanto, se a polpa e licor de cozimento são esfriados antes da separação, a maioria da xilana é reprecipitada sobre a polpa.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com substância alcalina, em que, preferivelmente, a temperatura está na faixa de 130°C a 180°C, ou preferivelmente de 140°C a 180°C.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com substância alcalina e o cozimento é realizado durante um intervalo de tempo de 45 a 300 minutos.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com substância alcalina, mais preferivelmente um cozimento com substância alcalina em que a razão de líquido-para-sólido é de 3:1 a 10:1.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com substância alcalina e a quantidade de Na_2SO_3 é de 5 a 60% p/p, enquanto a quantidade de base é de 5 a 25% p/p.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com substância alcalina e a base utilizada é selecionada do grupo consistindo em NaOH ou NH_4OH (NH_3).

Adicionar antraquinona a cozimentos com substância alcalina melhora a deslignificação e resulta em um grau mais alto de carboidratos na polpa. Portanto, se um cozimento com substância alcalina é realizado como a etapa de pré-tratamento com sulfito, a adição de antraquinona ao licor de cozimento é preferida.

Cozimentos com substância alcalina fraca fornecem polpas similares àquelas dos cozimentos com substância alcalina embora com um pouco mais de lignina residual e xilana.

No contexto do presente pedido, "cozimento com sulfito alcalino fraco" é definido como um cozimento com sulfito de sódio e carbonato de sódio. As principais vantagens destes cozimentos são as estruturas de carboidrato prevalecentes, isto é, tanto a celulose quanto a hemicelulose essencialmente permanecem na polpa.

Adicionar antraquinona a cozimentos com substância alcalina fraca melhora a deslignificação e resulta em um grau mais alto de carboidratos na polpa. Portanto, se um cozimento com substância alcalina fraca é realizado como a etapa de pré-tratamento com sulfito, a adição de antraquinona ao licor de cozimento é preferida.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com substância alcalina fraca e a temperatura está na faixa de 140°C a 180°C.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com substância alcalina fraca e o cozimento é realizado durante um intervalo de tempo de 45 a 300 minutos.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com substância alcalina fraca e a razão de líquido-para-sólido é de 3:1 a 10:1.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com substância alcalina fraca e a quantidade de Na_2SO_3 é de 10 a 60% p/p, enquanto a quantidade de Na_2CO_3 é de 3 a 25% p/p e preferivelmente de 5 a 25% p/p.

O rendimento de celulose e hemicelulose e o grau de deslignificação são consideravelmente mais alto para cozimentos com pH alto (substância alcalina fraca e substância alcalina) do que para cozimentos com pH baixo (ácido e bissulfito). Os cozimentos com pH alto fornecem polpas de viscosidade consideravelmente mais alta do que os cozimentos com pH baixo.

Portanto, de acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, o valor de pH no qual o cozimento com sulfito da etapa de pré-tratamento (i) é realizado, é mais alto do que 5, preferivelmente mais alto do que 7, mais preferivelmente mais alto do que 9.

Separação da Polpa e SSL

Na etapa (ii) do processo de acordo com a presente invenção, a polpa (fase sólida; celulose e hemicelulose) é separada do Licor de sulfito gasto (fase de SSL líquida; SSL, lignina sulfonada e hemicelulose) por qualquer método de separação conhecido à pessoa habilitada na técnica; em particular prensagem, filtração, sedimentação ou centrifugação.

Na etapa (ii), a separação resulta em uma fase de SSL líquida. A parte orgânica do SSL predominantemente compreende lignina (lignina sulfonada), isto é, compreende pelo menos 50% da lignina inicialmente presente na biomassa lignocelulósica, preferivelmente mais do que 60% ou mais do que 70% ou mais do que 80%. Mais preferivelmente, um cozimento com substância alcalina é realizado na etapa (i) e 80% ou mais ou 90% ou mais ou 95% ou mais da lignina inicialmente presente na biomassa lignocelulósica está presente na fase de SSL líquida depois da etapa (ii).

Em uma forma de realização preferida, visto que uma etapa de pré-tratamento com sulfito (rendimento alto) está sendo realizada na etapa (i), a etapa de separação (ii) resulta em 60% ou mais, preferivelmente 75% ou mais, mais preferivelmente 90% ou 95% ou mais da celulose que estava

inicialmente presente na biomassa lignocelulósica estando presente na fase de polpa.

Hidrólise

De acordo com a etapa (iii) do presente processo, a polpa como separada na etapa (ii) é hidrolisada. A polpa é preferivelmente hidrolisada por enzimas ou por degradação microbiana, embora uma etapa de hidrólise com ácido fraco ou ácido forte também possa ser utilizada.

Celulose é um polímero linear insolúvel de unidades de repetição de glicose (ou mais corretamente celobiose) ligadas por ligações β-1-4-glicosídicas. Em água, celulose é hidrolisada por ataque do hidrogênio eletrofílico da molécula de água na ligação glicosídica.

A taxa da reação pode ser aumentada pelo uso de temperaturas e pressões elevadas ou pode ser catalisada por ácido diluído ou concentrado ou por enzimas.

Hidrólise enzimática

Em cadeias de celulose cada unidade de glicose tem o potencial para formar três ligações de hidrogênio com monômeros em cadeias adjacentes, resultando em uma estrutura cristalina estável resistente à hidrólise.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, complexos de enzima extracelulares ou associados com membrana celular (celulases) que podem especificamente hidrolisar o polímero de celulose em monômeros de glicose solúveis são usados na etapa de hidrólise (iii). Celulases são complexos de multiproteína consistindo em enzimas sinérgicas com diferentes atividades específicas que podem ser divididas em exo- e endo-celulases (glucanase) e β-glucosidase (celobiase). Além disso existem enzimas (hemicelulases, lacases, peroxidases lignolíticas etc.) que podem quebrar os outros componentes principais da biomassa lignocelulósica. Todas estas enzimas e qualquer combinação destas são enzimas preferidas que podem ser usadas na hidrólise enzimática da etapa (iii).

Celobiose é um inibidor de produto final conhecido de glucanases e β-glucosidase é conhecida aliviar esta inibição convertendo-se celobiose à glicose (etapa limitante de taxa). Em processos industriais, por exem-

plo, fermentação com etanol por levedura, eficiência de sacarificação de celulase pode ser melhorada por sacarificação e fermentação simultâneas (SSF). O maior desafio com SSF é a condição mais favorável de temperatura diferente para enzimas hidrolíticas comuns e organismos de fermentação. Além da inibição do produto final, a lignina é conhecida reduzir o desempenho da enzima ligando-se não especificamente a celulases.

Tanto a hidrólise ácida quanto enzimática da celulose é limitada pela natureza cristalina forte de celulose. As vantagens da hidrólise enzimática sobre a hidrólise ácida são o uso de condições suaves e formação mínima de produtos de degradação, enquanto as desvantagens podem ser processamento lento e caro. O pré-tratamento da celulose é vital para aumentar a área de superfície específica da celulose e para reduzir a cristalinidade. O pré-tratamento correto tem as vantagens de aumentar a taxa de hidrólise enzimática devido a substrato mais acessível e também removendo-se substâncias inibitórias potenciais como observado acima.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, a etapa de hidrólise (iii) é uma etapa de hidrólise enzimática.

De acordo com uma forma de realização preferida da presente invenção, as enzimas são recicladas, preferivelmente por adsorção de substrato e/ou separação de membrana.

Hidrólise com ácido fraco

A hidrólise ácida é um método barato e rápido para obter monossacarídeos a partir de celulose e hemicelulose, mas gera alguns produtos de degradação. Condições de hidrólise ácida severas (temperatura alta ou concentração alta de ácido) degradam os monossacarídeos a furfural e 5-hidroximetilfurfural (HMF) e a ácidos alifáticos (tais como AcOH, HCOOH e ácido levulínico). Entretanto, a hidrólise com ácido fraco pode ser sob certas circunstâncias útil como uma etapa de hidrólise.

Uma hidrólise com ácido concentrado é preferivelmente operada em temperaturas de 20°C a 100°C, e uma resistência ácida na faixa de 10% a 30%. Preferivelmente ácido sulfúrico é usado. O processo requer equipamento resistente à corrosão e recuperação do ácido.

A hidrólise com ácido diluído é um processo mais simples, mas precisa de temperaturas mais altas (100°C a 230°C) e pressão. Diferentes tipos de ácidos, com concentrações na faixa de 0% a 5%, são preferivelmente usados (por exemplo, ácido acético, HCl ou ácido sulfúrico). Um processo com ácido diluído precisará de equipamento tolerante à pressão.

De acordo com a presente invenção, um processo de hidrólise com ácido diluído de etapa dupla é particularmente preferido.

Fermentação

A etapa (iv) do presente processo refere-se à fermentação de monossacarídeos, em particular de hexoses e pentoses a etanol ou outros produtos químicos com base em açúcar ou para produzir proteínas de biomassa.

A fermentação envolve microorganismos que quebram açúcares liberando energia enquanto o processo resulta em produtos como um álcool ou um ácido. *Saccharomyces cerevisiae* (levedura de Baker) é o mais frequentemente usada para fermentar hexoses a etanol. Um mol de glicose produzirá estequiometricamente 2 mol de etanol mais 2 mol de dióxido de carbono. A polpa do bagaço contém quantidades relativamente grandes de pentoses. Estes açúcares também podem ser fermentado ou metabolizados para produzir proteínas de biomassa.

De acordo com uma forma de realização da presente invenção, bagaço é usado como a matéria-prima e a etapa de fermentação (iv) compreende a metabolização do hidrolisado da etapa (iii) em proteínas de biomassa.

Processamento de Lignossulfonato

De acordo com a etapa (v) do processo integrado de acordo com a presente invenção, a fase de SSL líquida (a) da etapa (ii), isto é, o SSL compreendendo 50% ou mais ou 60% ou mais ou 70% ou mais ou 80% ou mais da lignina na matéria-prima, é processado à lignina sulfonada purificada (lignossulfonatos) e outros produtos. A principal etapa no processamento pode ser, por exemplo, fermentação, ultrafiltração, destruição de açúcar, precipitação etc. Outras etapas podem incluir secagem, evaporação, extração e neutralização etc.

A lignina sulfonada (lignossulfonatos) pode ser usada para uma ampla faixa de aplicações, incluindo mas não limitada a produtos químicos, expansores de bateria, proteína de derivação, dispersões de negro-de-fumo, cimento, cerâmicas, misturas de concreto, emulsões, fertilizantes, placa de gipsita, ácido húmico, aglutinantes industriais, limpadores industriais & aditivos de tratamento da água, condicionadores do solo, micronutrientes, mineração e processamento de mineral, produtos químicos do campo petrolífero, realçadores do desempenho da peletização e controle de poeira de estrada & solo, entre outros.

Deslignificação adicional opcional

Em uma forma de realização preferida e com o objetivo de reduzir ainda mais a quantidade de lignina na fase sólida (polpa), uma etapa de deslignificação com oxigênio/álcali (etapa de extração) (i') pode ser parte do processo integrado global. Esta etapa de extração opcional (i') é preferivelmente realizada depois da etapa de pré-tratamento (i) e antes da etapa de separação (ii).

Extrair mais lignina tem a vantagem de produção de lignossulfonato aumentada.

A dita deslignificação adicional é preferivelmente considerada para polpas que surgem do processo com sulfito ácido visto que estas polpas têm teores de lignin comparativamente altos. A deslignificação com oxigênio (10% de carga de NaOH, 6 bar de oxigênio) pode fornecer uma redução do número capa de 58 unidades (70 a 12) para uma polpa cozida com sulfito ácido. A lignina sulfonada extraída durante a deslignificação (aproximadamente 25% das ligninas sulfonadas extraídas durante o cozimento) tem poderes de dispersão.

A deslignificação com oxigênio/álcali de remoção de lignina é a etapa de deslignificação adicional preferida. Durante a deslignificação com oxigênio, a polpa é submetida à pressão de oxigênio em pH alto e temperatura elevada.

Exemplos

O seguinte aplica-se em geral por todo o relatório descritivo intei-

ro e também para as reivindicações:

"TS" denota "Sólidos Totais" e é a razão entre o peso de uma amostra depois que ela foi seca a 105°C durante 16 h, e seu peso original;

A temperatura é fornecida em °C

"w" denotes peso;

"%" denotes "% em peso" se não especificado de outro modo;

"V/p" denotes "volume em mL" em peso em g se não especificado de outro modo.

Exemplo 1 – Cozimento com substância alcalina com sulfito, hidrólise enzimática

Bagaço [82% TS (Sólidos totais)] foi usado como estoque de alimentação. O estoque de alimentação foi misturado com um licor de cozimento consistindo em 6% de NaOH (alimentação em p/p) e 24% de Na_2SO_3 (alimentação em p/p) com uma razão de líquido para sólido de 6 a 1.

A mistura foi aquecida até 170°C com um aumento de temperatura de 1,6°C/min. O cozimento foi mantido a 170°C durante 60 min.

Depois do cozimento, isto é, depois da etapa de pré-tratamento de acordo com a presente invenção, o sólido (polpa, 51% do TS) e o líquido (SSL, 49% do TS) foram separados por filtração. A polpa consistiu em celulose correspondendo a 57% de glicose, xilana correspondendo a 24% de xilose, 2% de outros carboidratos, 5% de lignina, 4% de cinzas e 8% de componentes não definidos.

O SSL teve um teor de carboidrato de 11% (xilana correspondendo a 6,4% de xilose) em TS. O teor de enxofre orgânico no SSL foi 5,7% em TS. O restante do SSL foi lignina sulfonada (lignossulfonato) e material inorgânico. Depois da evaporação, o SSL foi testado quanto a diferentes aplicações e provou ser comparável a produtos comerciais existentes.

Nas outras etapas do processo com referência à polpa de celulose, a dita polpa foi enzimaticamente hidrolisada com 0,7% (peso de proteína/peso de alimento) de enzimas (0,5% de celulase, 0,05% de β-glucosidase e 0,15% de xilanase) a 50°C durante 48 horas. Isto resultou em um rendimento de 92% com respeito à glicose e 90% com respeito à xilose. O líquido

(hidrolisado) foi separado da fase sólida por centrifugação.

Exemplo 2 – Cozimento com sulfito ácido, hidrólise enzimática

Bagaço (82% de TS) foi usado como estoque de alimentação. O estoque de alimentação foi misturado com um licor de cozimento com 35% de SO_2 (alimentação em p/p) e 3,1% de íon de hidróxido (alimentação em p/p), NaOH foi usado como base. A razão de líquido para sólido foi 6 a 1. Na dita etapa de pré-tratamento, a mistura foi aquecida até 140°C com um aumento de temperatura de 1,9°C/min e uma interrupção a 105°C durante 30 min. O cozimento foi mantido a 140°C durante 180 min.

Depois do cozimento, as fases sólidas (polpa, 45% do TS) e líquidas (SSL, 55% do TS) foram separadas por filtração. A polpa consistiu em celulose, correspondendo a 79% de glicose, xilana, correspondendo a 6% de xilose, 1% de outros carboidratos, 11% de lignina, 3% de cinzas.

O SSL teve um teor de carboidrato de 25% (19% de xilose) em TS. O teor de enxofre orgânico no SSL foi 4,6% em TS. Depois da evaporação, o SSL foi testado quanto a diferentes aplicações e provou ser comparável a produtos comerciais existentes.

Na etapa de hidrólise depois do pré-tratamento, a polpa foi enzimaticamente hidrolisada com 0,55% (peso de proteína/peso de alimento) de enzimas (0,5% celulase, 0,05% β-glucosidase) a 50°C durante 48 horas. Isto resultou em um rendimento de 96% com respeito à glicose e 75% com respeito à xilose. O líquido (hidrolisado) foi separado da fase sólida por centrifugação.

Exemplo 3 – Cozimento com sulfito alcalino fraco, hidrólise enzimática

Bagaço (91,4% de TS) foi usado como estoque de alimentação. O estoque de alimentação foi misturado com um licor de cozimento consistindo em 6% de Na_2CO_3 (alimentação em p/p) e 16% de Na_2SO_3 (alimentação em p/p) com uma razão de líquido para sólido de 6 a 1.

A mistura foi aquecida até 160°C com um aumento de temperatura de 1,3°C/min. O cozimento foi mantido a 160°C durante 180 min.

Depois do cozimento o sólido (polpa, 53% do TS) e o líquido (SSL, 47% do TS) foram separados por filtração. A polpa consistiu em celulose correspondendo a 63% de glicose, xilana correspondendo a 27% de

xilose, 2% de outros carboidratos, 5% de lignina e 3% de cinzas.

O SSL teve um teor de carboidrato de 7,5% (xilana correspondendo a 4,7% de xilose) em TS. O restante do SSL foi lignina sulfonada (lignossulfonato) e material inorgânico.

Nas outras etapas do processamento da polpa de celulose, a dita polpa foi enzimaticamente hidrolisada com duas concentrações de substrato diferentes 5 e 10% p/p. Duas formulações de enzima diferentes foram usadas para a sacarificação, sistema Celluclast da Novozymes, (5% de "Celluclast 1,5L", 0,5% de β-glucosidase "Novozym 188" e 1% de xilanase "Shearzyme" todos em V/p de polpa) e sistema Genencors Accellerase 1500 (24% V/p de polpa) ambas as formulações foram testadas no pH 5 (5 mM de tampão de citrato) incubadas a 50°C durante 72 horas. Amostras foram tomadas em 6, 24, 48 e 72 horas. Os resultados são fornecidos na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados do cozimento com substância alcalina fraca com hidrólise enzimática, exemplo 3.

% de Rendimento	6 h		24 h		48 h		72 h	
	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose
Substância alcalina fraca *concentração da polpa a 5 % (Celluclast)*	22,1	31,0	50,3	63,3	71,4	90,0	81,0	90,0
Substância alcalina fraca *concentração da polpa a 5 % (Accellerase)*	35,3	52,2	56,8	53,8	61,5	58,7	69,5	65,2
Substância alcalina fraca *concentração da polpa a 10 % (Celluclast)*	13,9	24,6	38,4	57,1	61,0	76,3	67,0	76,3
Substância alcalina fraca *concentração da polpa a 10 % (Accellerase)*	22,1	22,8	44,8	49,9	49,4	48,9	54,7	57.9

Exemplo 4 – Cozimento com sulfito ácido II, hidrólise enzimática

Bagaço (91,4% de TS) foi usado como estoque de alimentação. O estoque de alimentação foi misturado com um licor de cozimento com 47% de SO_2 (alimentação em p/p) e 3,8% de íon de hidróxido (alimentação em p/p). NaOH foi usado como base. A razão de líquido para sólido foi 6 para 1. Na dita etapa de pré-tratamento, a mistura foi aquecida até 140° C com um aumento de temperatura de 1,5° C/min. O cozimento foi mantido a 140° C durante 120 min.

Depois do cozimento, as fases sólidas (polpa, 47% do TS) e líquidas (SSL, 53% do TS) foram separadas por filtração. A polpa consistiu em celulose correspondendo a 79% de glicose, xilana correspondendo a 8% de xilose, menos do que 1% de outros carboidratos, 11% de lignina e 2% de cinzas.

O SSL teve um teor de carboidrato de 22,8% (20,2% de xilose) com base em TS. O teor de enxofre orgânico no SSL foi 4,6% com base em TS.

Nas outras etapas do processo com referência à polpa de celulose, a dita polpa foi enzimaticamente hidrolisada com duas concentrações de substrato diferentes 5 e 10% p/p. Duas formulações de enzima diferentes foram usadas para a sacarificação, sistema Celluclast da Novozymes, (5% de "Celluclast 1,5L", 0,5% de β-glucosidase "Novozym 188" e 1% de xilanase "Shearzyme" todos em V/p de polpa) e sistema Genencors Accellerase 1500 (24% V/p de polpa) ambas as formulações foram testadas no pH 5 (5 mM de tampão de citrato) incubadas em 50°C durante 72 horas. Amostras foram tomadas em 6, 24, 48 e 72 horas. Os resultados são fornecidos na Tabela 2 e mostram que o processo da invenção funciona bem com diferentes tipos de enzimas.

Tabela 2. Resultados do cozimento com ácido II com hidrólise enzimática, exemplo 4.

% de Rendimento	6 h		24 h		48 h		72 h	
	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose
Ácido *concentração da polpa a 5 % (Celluclast)*	21,9	33,3	46,0	52,6	61,7	66,3	61,7	66,3

% de Rendimento	6 h		24 h		48 h		72 h	
	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose
Ácido *concentração da polpa a 5 % (Accellerase)*	33,3	34,6	48,7	52,4	50,5	57,2	57,8	66,3
Ácido *concentração da polpa a 10 % (Celluclast)*	17,0	26,8	40,0	50,8	49,8	54,2	49,7	56,5
Ácido *concentração da polpa a 10% (Accellerase)*	23,5	24,8	48,2	48,5	51,3	54,2	54,7	58,8

Exemplo 5 – Cozimento com sulfito ácido e alcalino fraco de palha, hidrólise enzimática

Palha norueguesa (92,5% de TS) foi usada como estoque de alimentação. O estoque de alimentação foi dividido em duas partes. A parte um foi misturada com um licor de cozimento consistindo em 16% de Na_2SO_3 (alimentação em p/p) e 6% de Na_2CO_3 (alimentação em p/p). Na dita etapa de pré-tratamento, a mistura foi aquecida até 160°C com um aumento de temperatura de 2°C/min. O cozimento foi mantido a 160°C durante 120 min.

A parte dois foi misturada com um licor de cozimento com 36,1% de SO_2 (alimentação em p/p) e 3,8% de íon de hidróxido (alimentação em p/p), NaOH foi usado como base. Na dita etapa de pré-tratamento, a mistura foi aquecida até 132°C com um aumento de temperatura de 1,8°C/min. O cozimento foi mantido a 132°C durante 180 min.

A razão de líquido para sólido foi 6:1 para ambos os cozimentos.

Depois do cozimento (substância alcalina fraca/ácido), as fases sólidas (polpa, 49/45% do TS) e líquidas (SSL, 51/55% do TS) foram separadas por filtração (apenas os sólidos secos foram levados em consideração determinando as porcentagens). A polpa consistiu em celulose correspondendo a 63/81% de glicose, xilana correspondendo a 25/10% de xilose, 2/menos do que 1% de outros carboidratos, 7/15% de lignina e 2/0% de

componentes não definidos.

O SSL teve um teor de carboidrato de 14,3/21,1% (xilana correspondendo a 8,5% de xilose/16,7% de xilose) em TS.

Nas outras etapas do processo com referência à polpa de celulose, a dita polpa foi enzimaticamente hidrolisada em uma concentração de substrato de 8% p/p. Um formulação de enzima, sistema Celluclast da Novozymes, (10% de "Celluclast 1,5L", 15% de β-glucosidase "Novozym 188" e 2% de xilanase "Shearzyme" todos em V/p de polpa) foram testados em pH 5 (5 mM de tampão de citrato) incubados em 50°C durante 24 horas. Amostras foram tomadas depois de 24 horas. O uso da amostra cozida com substância alcalina fraca resultou em um rendimento de 62% de glicose e 68% de xilose. O uso da amostra cozida com ácido resultou em um rendimento de 60% de glicose e 78% de xilose.

Exemplo 6 – Cozimento com sulfito ácido, alcalino fraco e alcalino de bagaço, hidrólise enzimática

Um conjunto de 25 cozimentos com ácido, substância alcalina fraca e substância alcalina foram conduzidos, bagaço (65% TS) foi usado como estoque de alimentação. Condições abrangendo uma amplo faixa foram testadas. Cozimentos com ácido: 20 a 50% de SO_2 (alimentação em p/p) e 2 a 8% de íon de hidróxido (alimentação em p/p), NaOH foi usado como base. A temperatura do cozimento variou de 125 a 160°C e o tempo de 60 a 180 min. Cozimentos com substância alcalina fraca: Na_2SO_3 a 10 a 40% (alimentação em p/p) e Na_2CO_3 a 5 a 25% (alimentação em p/p). A temperatura do cozimento variou de 140 a 180°C e o tempo do cozimento de 60 a 180 min. Cozimentos com substância alcalina: Na_2SO_3 a 10 a 40% (alimentação em p/p) e NaOH a 5 a 30% (alimentação em p/p). A temperatura do cozimento variou de 140 a 180°C e o tempo de 60 a 180 min.

Os cozimentos resultaram em 25 polpas diferentes com uma quantidade variada de lignina residual a 1,6 a 51% (número capa de 8 a 102)

Nas outras etapas do processo com referência à polpa, a dita polpa foi enzimaticamente hidrolisada em uma concentração de substrato de 2% p/p. Uma formulação de enzima, sistema Celluclast da Novozymes, (5%

de "Celluclast 1,5L", 0,5% de β-glucosidase "Novozym 188" e 1% de xilanase "Shearzyme" todos em V/p de polpa) foram testados no pH 5 (5 mM de tampão de citrato) incubados a 50°C durante 48 horas. Rendimento de glicose como um gráfico de número capa (lignina residual) é apresentado na Figura 3. Os resultados na Figura 3 mostram que não existe nenhuma correlação clara entre as digestibilidades das polpas e seus teores de lignina (números capa). Em outras palavras, apesar do fato de que o teor residual varia significativamente de baixo a alto, isto não tem nenhum efeito notável sobre o rendimento, que varia entre 60% e 100% (valores > 100% são devidos à barra de erros) sem nenhuma correlação com Capa. Acredita-se que isto seja devido à "desativação" da lignina pelo processo com sulfito como descrito acima.

Exemplo 7 – Fermentação com etanol

A fermentação foi realizada usando levedura de Baker (*Saccharomyces cerevisiae)* em 2L de Biostat B mais fermentadores (Sartorius Stedium) como culturas em lote sob condições controladas.

Placas de ágar com YPD [extrato de levedura (10 g/l), peptona (20 g/L), dextrose (20 g/L), ágar (20 g/L)] foram usadas para manter a cepa. Uma única colônia foi escolhida e inicialmente inoculada em 100 ml de meio YPD e incubada durante a noite a 34°C e 200 rpm. A cultura foi criopreservada em 30% de glicerol a -80°C em alíquotas de 10 ml. Uma alíquota descongelada foi usada como inóculo para uma cultura de partida que foi cultivada em 600 ml de meio YPD durante a noite. As células foram colhidas por centrifugação, lavadas com solução de cloreto de sódio (9 g/L) e centrifugadas.

Hidrolisados preparados de acordo com os procedimentos dos Exemplos 3 e 4 acima foram corrigidos com solução de nutriente [$(NH_4)_2SO_4$ (0,44 g/L), KH_2PO_4 (2,0 g/L) e $MgSO_4$ (0,50 mg/L)] e 1,0 g/L de extrato de levedura e o pH foi ajustado para 4,6. Uma pelota de inóculo (ajustada para fornecer uma concentração de biomassa inicial de ~2 g l^{-1} de peso seco) foi colocada em suspensão nesta. O nível de glicose durante a fermentação foi monitorado usando-se um glicômetro (Glucometer Elite, Bayer AG, Ger-

many). Amostras tomadas dos fermentadores foram centrifugadas a 13000 g durante 1 min. O sobrenadante foi filtrado através de um filtro de HPLC (0,45 µm de filtro de seringa de 13 mm GHP Acrodisc) e analisado quanto ao teor de glicose (cromatografia iônica) e concentração de etanol (cromatografia gasosa).

Os hidrolisados obtidos usando-se os procedimentos nos Exemplos 3 e 4 ambos forneceram um coeficiente de rendimento de 0,50 (g de etanol/g de glicose).

Exemplos Comparativos

Exemplo Comparativo I – Cozimentos com soda, hidrólise enzimática

Bagaço (91,4% de TS) foi usado como estoque de alimentação. O estoque de alimentação foi misturado com licor de cozimento consistindo em 16% de NaOH (alimentação em p/p) com uma razão de líquido para sólido de 6 para 1.

Cozimento com soda I:

A mistura foi aquecida até 160° C com um aumento de temperatura de 1,3°C/min. O cozimento foi mantido a 160°C durante 180 min.

Cozimento com soda II:

A mistura foi aquecida até 140°C com um aumento de temperatura de 1,5°C/min. O cozimento foi mantido a 140°C durante 120 min.

Depois do cozimento, o sólido (polpa, 48/52% do TS) e o líquido (licor preto, 52/48% do TS) foram separados por filtração (apenas os sólidos secos são levados em consideração determinando as porcentagens). A polpa consistiu em celulose correspondendo a 68/65% de glicose, xilana correspondendo a 26/26% de xilose, 2/2% de outros carboidratos, 4/5% de lignina, 2/2% de cinzas.

O SSL teve um teor de carboidrato de 9,6/9,2% (5,7/5,9% de xilose) em substância seca. O restante do licor preto foi lignina degradada, ácidos alifáticos e substâncias inorgânicas.

Nas outras etapas do processo com referência à polpa de celulose, a dita polpa foi enzimaticamente hidrolisada com duas concentrações de substrato diferentes 5 e 10% p/p. O sistema Celluclast da Novozymes,

(5% de "Celluclast 1,5L", 0,5% de β-glucosidase "Novozym 188" e 1% de xilanase "Shearzyme" todos em V/p de polpa) foram testados no pH 5 (5 mM de tampão de citrato) incubados em 50° C durante 72 horas. Amostras foram tomadas em 6, 24, 48 e 72 horas, os resultados são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados de hidrólise enzimática de cozimento com soda I e II, Exemplo Comparativo I.

% de Rendimento	6 h		24 h		48 h		72 h	
	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose	Glicose	Xilose
Soda I *concentração da polpa a 5 %*	12,8	19,8	29,4	43,0	48,0	61,8	48,3	62,4
Soda I *concentração da polpa a 10 %*	4,3	11,3	12,7	34,4	26,4	60,1	47,1	61,6
Soda II *concentração da polpa a 5 %*	12,9	19,7	28,9	43,2	46,9	60,9	54,8	63,9
Soda II *concentração da polpa a 10 %*	6,5	12,2	10,7	33,6	21,5	57,4	30,1	54,2

Interpretação do Exemplo Comparativo I e Exemplos 3 e 4

Quando o método de pré-tratamento da presente invenção é comparado com um cozimento com soda convencional, várias diferenças podem ser observadas. O processo reivindicado gera uma fração líquida (SSL) que facilmente pode ser transformado em produtos com propriedades de dispersão extensivas. Quando a segunda etapa (hidrólise/sacarificação) do processo é examinada, uma diferença clara existe na digestibilidade entre amostras cozidas com soda e sulfito, ver a Figura 4.

Pode ser claramente observado que o bagaço pré-tratado com sulfito é muito mais fácil para hidrolisar do que o bagaço cozido com soda. Antes da presente invenção, a predisposição na técnica foi que existe uma correlação direta entre digestibilidade enzimática e a quantidade de lignina para os materiais pré-tratados (ver, por exemplo: Mooney C.A. *et al.*,1998, "The efect of the initial pore volume and lignin content on the enzymatic hy-

drolysis of softwood", Biores. Technol. 64, 2, 113-119, e Lu Y. *et al.*, 2002, "Cellulase adsorption and an evaluation of enzyme recycle during hydrolysis of steam-exploded softwood residues", Appl. Biochem. Biotechnol. 98-100, 641-654.). O pré-tratamento com sulfito resulta em polpas mais facilmente hidrolisadas do que os cozimentos com soda, apesar do fato de que o teor de lignina é mais baixo nos cozimentos com soda. Esta descoberta indica fortemente que o teor de lignina não é um fator determinante de taxa para a hidrólise de material pré-tratado com sulfito. Isto não foi previamente observado para pré-tratamentos de deslignificação e não foi previsto.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para produzir monossacarídeos, produtos químicos com base em açúcar, biocombustíveis ou materiais junto com lignina sulfonada a partir de biomassa lignocelulósica, sendo o dito processo caracterizado pelo fato de que compreende pelo menos as seguintes etapas:

(i) pré-tratamento de uma biomassa lignocelulósica em uma etapa de cozimento com sulfito;

(ii) separação da biomassa lignocelulósica pré-tratada da etapa (i) em

(a) uma fase líquida de "licor de sulfito gasto" compreendendo pelo menos 60% da lignina da biomassa lignocelulósica na forma de lignina sulfonada, e em

(b) uma polpa compreendendo pelo menos 70% ou mais da celulose da biomassa lignocelulósica;

(iii) hidrólise da polpa (b) da etapa (ii) em uma plataforma química do açúcar compreendendo monossacarídeos;

(iv) opcionalmente processamento adicional dos monossacarídeos da etapa (iii) resultando em produtos químicos, biocombustíveis e/ou proteínas úteis; e

(v) conversão direta ou processamento adicional da lignina sulfonada da fase líquida (a) da etapa (ii) em produtos químicos e/ou materiais úteis,

sendo que a etapa de hidrólise (iii) é uma etapa de hidrólise enzimática.

2. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que os monossacarídeos compreendem hexoses e pentoses.

3. Processo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que a biomassa lignocelulósica compreende madeira, plantas anuais, resíduos agrícolas ou refugo, em particular bagaço ou safras de energia, e/ou

sendo que a biomassa lignocelulósica usada no processo não requer (pré)tratamento mecânico e/ou em que a etapa de cozimento com

sulfito (i) é o único (pré)tratamento químico antes da hidrólise.

4. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que a parte orgânica da fase de SSL líquida predominantemente compreende lignina na forma de lignina sulfonada, isto é, compreende pelo menos 70% da lignina inicialmente presente na biomassa lignocelulósica.

5. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que o valor de pH no qual o cozimento com sulfito da etapa de pré-tratamento (i) é realizado é mais alto do que 5.

6. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que um cozimento com ácido é realizado como o único pré-tratamento químico.

7. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que, a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com ácido e a quantidade de SO_2 é de 10 a 60% p/p e a quantidade de base (íon de hidróxido) é de 1 a 10% p/p.

8. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a etapa de pré-tratamento com sulfito é uma etapa de cozimento com substância alcalina.

9. Processo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a quantidade de Na_2SO_3 é de 5 a 60% p/p, enquanto a quantidade de base é de 5 a 25% p/p.

10. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a etapa de pré-tratamento com sulfito é um cozimento com substância alcalina fraca.

11. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que a etapa de hidrólise (iii) é uma etapa de hidrólise enzimática utilizando complexos de enzima extracelulares ou associados à membrana celular.

12. Processo de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que a etapa de hidrólise (iii) é uma etapa de hidrólise enzimática e as enzimas são recicladas.

13. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado pelo fato de que o bagaço é usado como a matéria-prima e a etapa de fermentação (iv) compreende a metabolização do hidrolisado da etapa (iii) em biocombustíveis tais como etanol e butanol, ou

sendo que o bagaço é usado como a matéria-prima e a etapa de fermentação (iv) compreende a metabolização do hidrolisado da etapa (iii) em proteínas de biomassa.

14. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato de que uma etapa de deslignificação com oxigênio/álcali (i') é parte do processo integrado global.

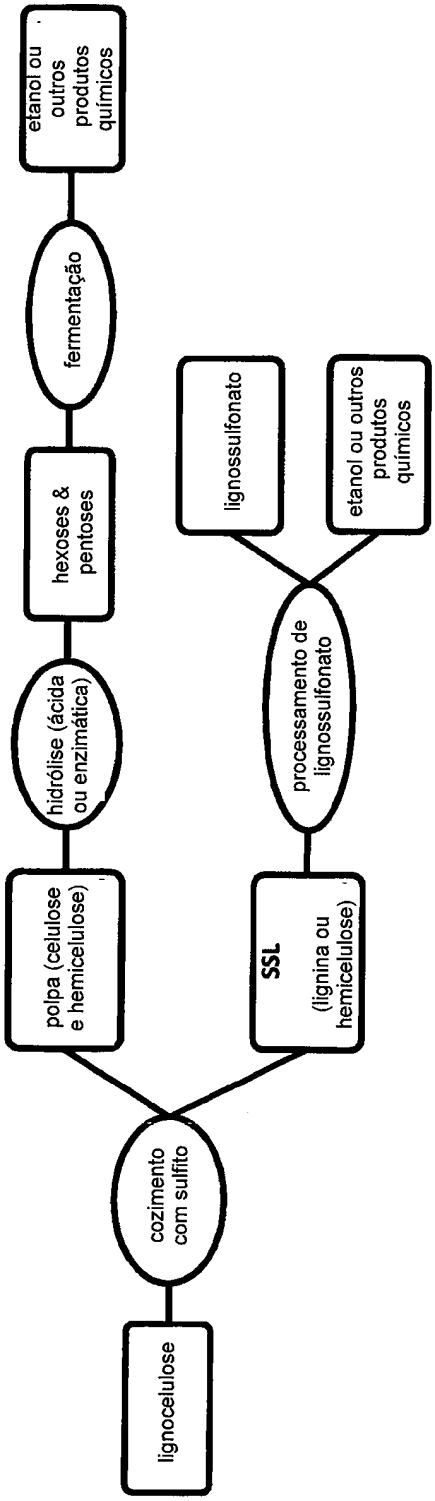

lignocelulose
cozimento com sulfito
polpa (celulose e hemicelulose)
hidrólise (ácida ou enzimática)
hexoses & pentoses
fermentação
etanol ou outros produtos químicos
SSL
(lignina ou hemicelulose)
processamento de lignossulfonato
lignossulfonato
etanol ou outros produtos químicos

FIG. 1

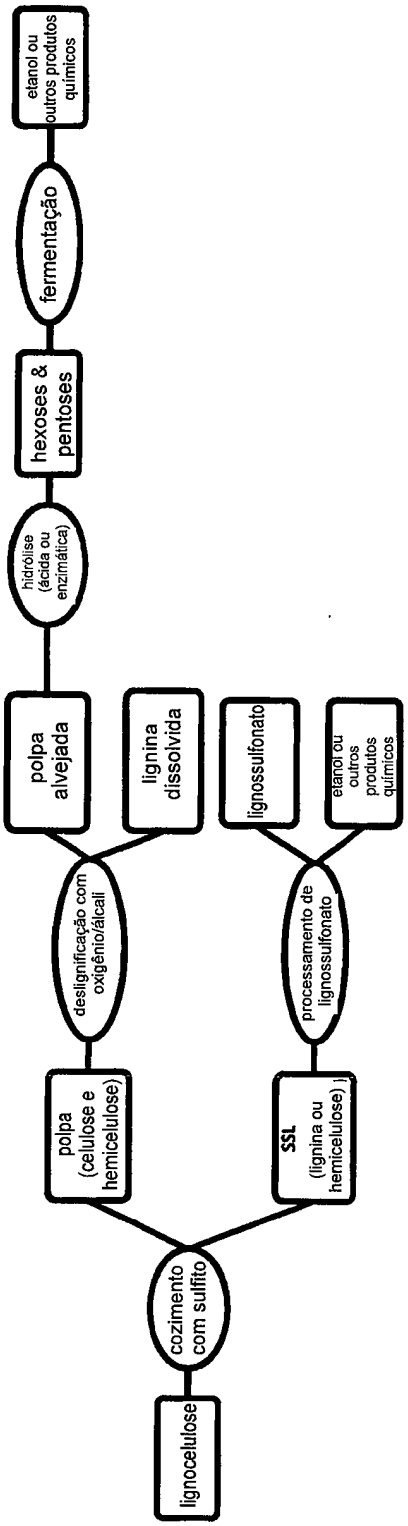

lignocelulose
cozimento com sulfito
polpa (celulose e hemicelulose)
SSL (lignina ou hemicelulose)
deslignificação com oxigênio/álcali
processamento de lignossulfonato
polpa alvejada
lignina dissolvida
lignossulfonato
etanol ou outros produtos químicos
hidrólise (ácida ou enzimática)
hexoses & pentoses
fermentação
etanol ou outros produtos químicos

FIG. 2

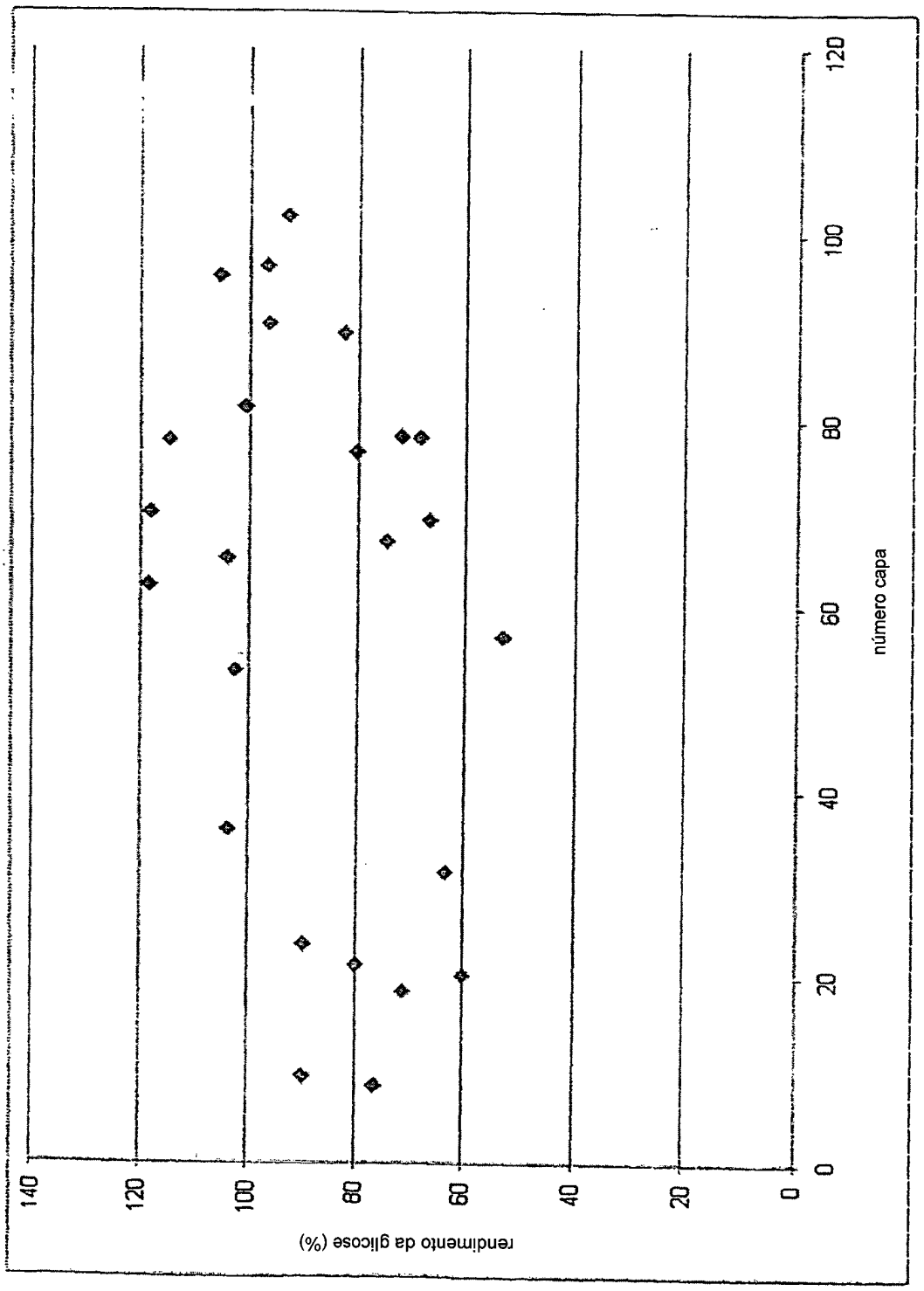

rendimento da glicose (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
0
20
40
60
80
100
120
número capa

FIG. 3

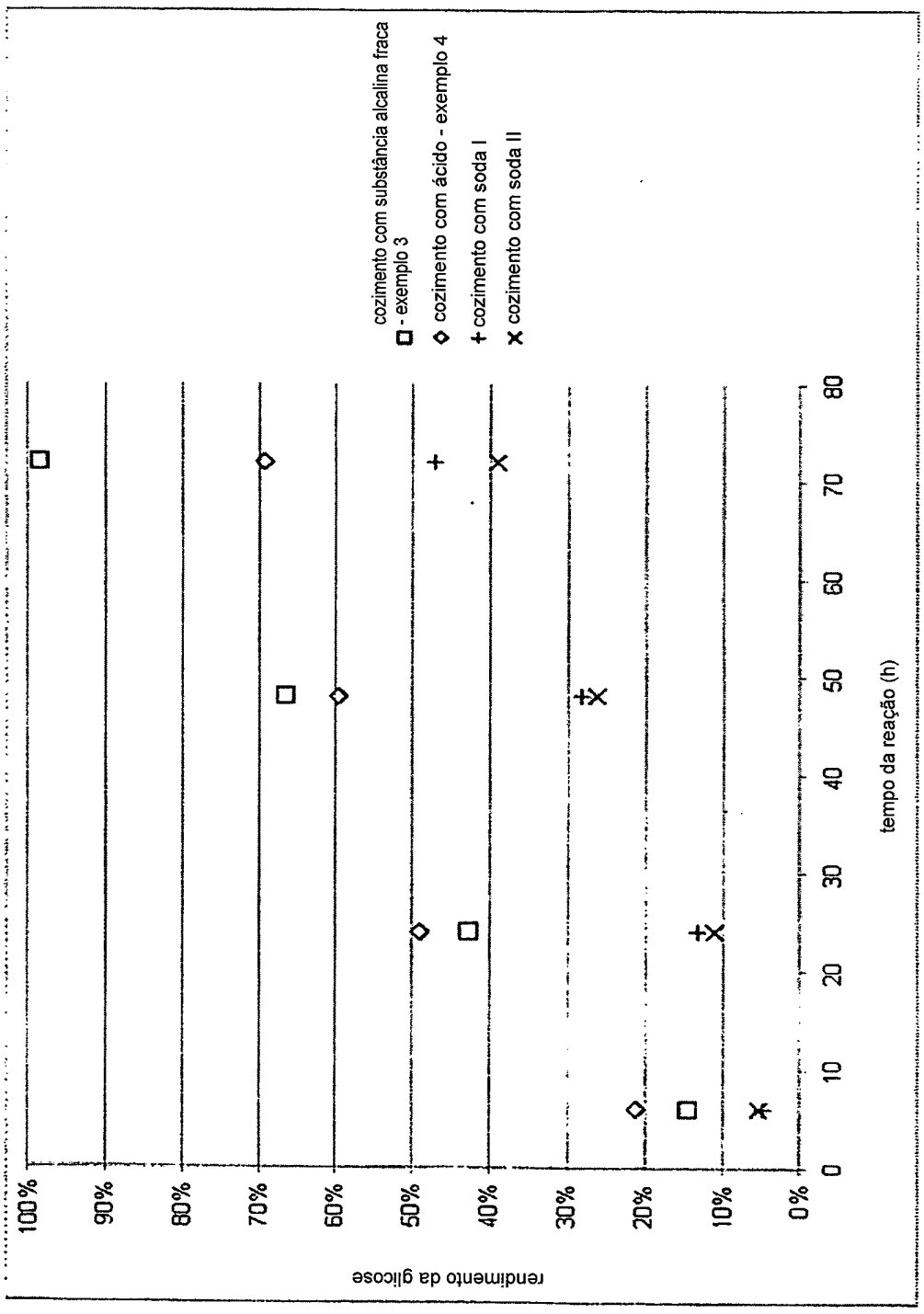

cozimento com substância alcalina fraca - exemplo 3
cozimento com ácido - exemplo 4
cozimento com soda I
cozimento com soda II
rendimento da glicose
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
0
10
20
30
40
50
60
70
80
tempo da reação (h)

FIG. 4