



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

**(21) BR 112012006612-9 A2**



**(22) Data do Depósito: 27/09/2010**

**(43) Data da Publicação Nacional: 18/08/2020**

---

**(54) Título:** PROCESSO PARA CONSERVAR UMA SOLUÇÃO DE CARBOIDRATO CONTRA MICROORGANISMOS

**(51) Int. Cl.:** A01N 59/00; A23L 3/358; C01B 11/02; C12P 7/06.

**(30) Prioridade Unionista:** 24/09/2010 US 12/889,979; 25/09/2009 US 61/245,763.

**(71) Depositante(es):** E.I. DU PONT DE NEMOURS AND COMPANY.

**(72) Inventor(es):** ERIC GUY SUMNER; DERRICK OKULL; ETHAN BARUCH SOLOMON.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2010050342 de 27/09/2010

**(87) Publicação PCT:** WO 2011/038317 de 31/03/2011

**(85) Data da Fase Nacional:** 23/03/2012

**(57) Resumo:** PROCESSO PARA CONSERVAR UMA SOLUÇÃO DE CARBOIDRATO CONTRA MICROORGANISMOS A presente invenção se refere a um processo para conservar uma matéria prima de carboidratos contra microorganismos contaminantes que compreende o contato da matéria prima do carboidrato com um dióxido de cloro estabilizado a um pH de pelo menos 2,6. A matéria prima de carboidrato compreende um carboidrato natural, em particular, um carboidrato com um grupo final redutor. O processo é particularmente adequado para tratar matérias primas utilizadas em processos de biorrefinaria, tal como na fermentação do etanol.

## **“PROCESSO PARA CONSERVAR UMA SOLUÇÃO DE CARBOIDRATO CONTRA MICROORGANISMOS”**

### **CAMPO DA INVENÇÃO**

A presente invenção se refere a um processo para impedir  
5 substancialmente o crescimento microbiano, em uma matéria prima de  
carboidrato, durante o armazenamento ou transporte, incluindo um processo  
em que a solução ou suspensão é uma matéria prima destinada para a  
produção de combustível de etanol.

### **ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

10 Recentemente, tem havido um crescimento substancial nas  
biorrefinarias integradas, em que qualquer número de matérias primas  
agrícolas pode ser convertido em combustíveis renováveis, bem como produtos  
químicos de maior valor, materiais e produtos farmacêuticos. Uma biorrefinaria  
opera sobre um conceito similar a uma refinaria petroquímica. As matérias  
15 primas recebidas para biorrefinarias incluem produtos agrícolas tradicionais,  
como milho, milo, trigo, cevada, milho, palha, sorgo, cana-de-açúcar,  
beterraba, melão, soro de leite, frutas e batatas, e também outros produtos  
que são atualmente classificados como fluxos de resíduos, tais como resíduos  
de madeira, bagaço, resíduos de papel e os resíduos sólidos urbanos. Um  
20 recurso de tais matérias primas é o teor de carboidratos, que pode ser  
explorado como um reagente em uma biorrefinaria. Os produtos de uma  
biorrefinaria podem ser destinados ao consumo humano, tal como o açúcar  
produzido a partir de melão de cana de açúcar ou produzidos a partir de  
beterraba sacarina ou para a utilização como combustível ou em síntese  
25 química, tal como etanol e ácido succínico produzido a partir do milho.

Uma aplicação particular do biorrefinamento é a produção de  
combustível de etanol. Como as reservas de petróleo estão se esgotando e  
mais caras, a necessidade por alternativas, e de preferência sustentáveis,

aumenta as fontes de energia. O etanol é uma opção para a substituição parcial ou completa de combustíveis derivados do petróleo para diferentes aplicações. Os automóveis movidos a etanol são uma realidade. O etanol tem vantagens sobre o uso de gasolina convencional como uma fonte de  
5 combustível renovável.

Atualmente, ambos o etanol industrial (por exemplo, combustível) e etanol bebida são produzidos em grande escala a partir de matérias primas agrícolas (natural) por processos de fermentação em que os açúcares são convertidos em etanol e dióxido de carbono por levedura inoculada. Muitas  
10 matérias primas podem ser utilizadas para fornecer o açúcar para a fermentação, incluindo potencialmente, qualquer amido ou material celulósico, que inclui quase todas as plantas, como qualquer amido ou celulose pode ser um precursor do açúcar. Algumas das matérias primas comuns particularmente adequadas para a produção de etanol combustível incluem milho, milo, sorgo,  
15 cana-de-açúcar, beterraba e melão.

Um problema significativo enfrentado em biorrefinarias é o desperdício de matérias primas durante o armazenamento e transporte. Como as matérias primas agrícolas, estas matérias primas tipicamente contêm altos níveis de microrganismos indesejáveis, tais como bactérias, fungos e leveduras  
20 indesejáveis que podem degradar (estragar) a matéria prima antes de entrar no processo de biorrefinação. Estes microrganismos podem ser introduzidos como parte da fonte original da matéria prima ou a partir de etapas de preparação preliminares das matérias primas de milho. Os microrganismos indesejáveis podem conter enzimas que convertem as matérias primas em açúcares que  
25 são metabolizados pelo microorganismo facilitando o seu crescimento. Assim, matéria prima valiosa é perdida a medida que é consumida pelo microorganismo. O crescimento destes microrganismos reduz o valor da matéria prima de entrada. Num exemplo particular, um problema significativo

com o armazenamento do melão e da cana de açúcar ou sumo de beterraba do açúcar é a deterioração do teor de açúcar devido à ação de microorganismos de deterioração, tais como *Leuconostoc* ou *Lactobacillus*.

5 Enquanto os biocidas são geralmente adequados para o tratamento de materiais que contenham microorganismos indesejáveis, estes não são específicos e atacam microorganismos alvo e não alvo. Os biocidas desempenham fracamente em sistemas de fermentação, pois podem atacar a levedura inoculada. O dióxido de cloro é um biocida que tem sido utilizado em sistemas de fermentação para tratar a infecção por microorganismo. O dióxido  
10 de cloro pode ser introduzido como gás de dióxido de cloro a partir de um gerador de dióxido de cloro apropriado. Alternativamente, o dióxido de cloro estabilizado (SCD) pode ser ativado pelo contato com ácido. A utilização de SCD para prevenir a infecção por microorganismo na presença de ácido é descrito no documento WO 2007/149450.

15 Ziegler descreve no documento WO 2007/097674 um método para reduzir os microorganismos indesejáveis, tais como bactérias, leveduras contaminantes ou levedura assassina, em um processo de fermentação utilizando gás de dióxido de cloro ( $\text{ClO}_2$ ). Este processo requer equipamentos de geração e reagentes necessários para gerar gás  $\text{ClO}_2$ . O  $\text{ClO}_2$  gerado deve  
20 ser utilizado como é produzido, uma vez que degrada quando exposto à luz, ou quando em contato com qualquer matéria orgânica, tal como estaria presente em um processo de fermentação. Ziegler ensina contra o uso de dióxido de cloro estabilizado como sendo difícil e impreciso, com potencial para matar levedura desejada e/ou inibir as enzimas necessárias.

25 O dióxido de cloro estabilizado está disponível comercialmente. O dióxido de cloro estabilizado é geralmente uma solução tamponada (por exemplo, utilizando um tampão de carbonato de pH alcalino) de clorito de sódio, embora outras fontes de dióxido de cloro também existam. As soluções

de clorito de sódio tamponadas são estáveis durante longos períodos de tempo. As soluções de clorito de sódio tamponadas podem gerar dióxido de cloro quando ativadas, tal como por oxidação química (por exemplo, com ozônio ou cloro), oxidação eletroquímica ou acidificação (por exemplo, utilizando um ácido forte tal como o HCl). Vide, por exemplo, “*Chlorine Oxygen Acids and Salts, Chlorous Acid, Chlorites and Chlorine Dioxide*”, de Jerry J. Kaczur e David W. Cawtfield, publicado online em: 04 dezembro de 2000, em Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.

Continua a existir uma necessidade por um processo para reduzir o nível de microrganismos contaminantes em matérias primas destinadas para a utilização em uma gama de processos de biorrefinaria. As matérias primas contendo carboidratos, incluindo as culturas de açúcar e matérias primas de celulose, são suscetíveis à degradação por microrganismos. Os processos de biorrefinaria incluem a fabricação de combustível de etanol, quebra da celulose contendo biomassa, produção de açúcar (de cana de açúcar e/ou açúcar de beterraba), cana de açúcar de refinação, processamento de amidos, tais como amido de batata e amido de milho, entre outros. Existe uma necessidade adicional por um processo para evitar a deterioração de matérias primas, tais como soluções e suspensões de carboidratos, durante o armazenamento e transporte.

É desejável ter um processo simples e econômico para estabilizar matérias primas de carboidratos no armazenamento e no transporte. É desejável ter um processo que não introduza agentes desnecessários e/ou indesejáveis na matéria prima, particularmente agentes que afetem negativamente a qualidade dos produtos de biorrefinaria, tal como o etanol.

A presente invenção atende a essas necessidades.

#### **DESCRIÇÃO RESUMIDA DA INVENÇÃO**

Um processo para conservar uma matéria prima de carboidratos

contra microorganismos contaminantes compreende ou consiste essencialmente ou consiste no contato da matéria prima do carboidrato com um dióxido de cloro estabilizado a um pH de pelo menos 2,6. A concentração do carboidrato na matéria prima é de pelo menos 1% e, de preferência, varia de 1 a 70% em peso, com base no peso de matéria prima total. A quantidade de dióxido de cloro estabilizado é de 10 a 10.000 mg/kg como o dióxido de cloro disponível, com base no peso da matéria prima total. A matéria prima de carboidrato compreende preferencialmente um carboidrato natural. Surpreendentemente, o processo é eficaz na ausência de ácido adicionado ou oxidante para gerar dióxido de cloro.

#### **DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO**

Marcas registradas são indicadas no presente em letras maiúsculas.

A presente invenção compreende um processo para conservar uma matéria prima de carboidratos contra a deterioração por microorganismos contaminantes. A matéria prima de carboidrato pode ser uma solução ou suspensão em carboidrato em um meio aquoso. O termo "meio aquoso", conforme utilizado no presente, significa que o meio é substancialmente água, tal como, por exemplo, superior a 80% de água, de preferência, superior a 90% de água, de maior preferência, superior a 95% de água. O meio aquoso pode ser superior a 99% de água.

O processo compreende ou consiste essencialmente, ou consiste no contato da solução ou suspensão de carboidrato com um dióxido de cloro estabilizado, a um pH de pelo menos 2,6, de preferência, pelo menos 3, de maior preferência, pelo menos pH 3,5, de maior preferência, ainda, pH de pelo menos 4, de maior preferência, ainda, pelo menos pH 4,5 e, de maior preferência, ainda, não superior ao pH 9. A concentração do carboidrato é de pelo menos de 1% na matéria prima, de preferência, de 1 a 70% com base no

peso total da matéria prima, e a quantidade de dióxido de cloro estabilizado adicionada é de 10 a 10.000 mg/kg para o teor de dióxido de cloro disponível, com base no peso total da matéria prima.

### CONSERVAÇÃO

5 Pelos termos “conservar” e “conservação” conforme aplicado no presente a uma matéria prima de carboidratos significa a prevenção da reação ou o consumo de carboidratos pelos microrganismos contaminantes, como bactérias. A conservação fornece uma matéria prima de carboidrato estável que não sofre alteração substancial, tal como resultaria da reação ou consumo  
10 devido ao metabolismo microbiológico, ao longo de um período de tempo de pelo menos um mês. Uma medida da mudança é a população microbiana da matéria prima conservada. Quando devidamente conservada, a matéria prima de carboidrato não sofre um aumento na população microbiana na matéria prima de mais de 1  $\log_{10}$  CFU/mL ou 1  $\log_{10}$  CFU/g. A população microbiana é  
15 tipicamente expressa como  $\log_{10}$  CFU/mL para matérias primas líquidas e como  $\log_{10}$  UFC/g para matérias primas sólidas/ semi sólidas. A expressão  $\log_{10}$  CFU/g também pode ser utilizada para matérias primas líquidas.

Uma segunda medida da mudança é que o pH da matéria prima conservada não deve mudar em mais de 0,5 unidades de pH. Enquanto a  
20 medição do pH fornece uma avaliação mais rápida de efeito conservação do que a medição da população microbiana, será considerado pelos técnicos no assunto que a mudança de pH pode não ser suficiente em todas as circunstâncias para monitorar a conservação (isto é, a falta de mudança) de uma matéria prima de carboidratos. Por exemplo, em matérias primas ou  
25 matérias primas tamponadas em pH inferiores a cerca de pH 6, pode ocorrer contaminação microbiana substancial antes do pH mudar em 0,5 unidades de pH.

Será ainda considerado pelos técnicos no assunto que outras

medidas de mudança podem ser utilizadas. Por exemplo, a detecção da presença de compostos indesejados pode indicar a mudança, tal como um produto do metabolismo da matéria prima de carboidratos. Os métodos de detecção podem incluir espectrofotometria, cromatografia e outros métodos conhecidos pelos técnicos no assunto. Ainda, outras medidas podem incluir alterações físicas da matéria prima de carboidrato, tais como a gravidade ou a viscosidade específica.

A presente invenção se refere a um método de conservação de uma matéria prima de carboidrato em operações unitárias. Por “operações unitárias” entende-se qualquer operação que envolve a matéria prima de carboidrato, e em particular, armazenagem, transporte, pré-processamento e produção. “Pré processamento” significa no presente qualquer etapa tomada imediatamente antes da utilização da matéria prima. O pré processamento, imediatamente antes do uso da matéria prima, inclui a transferência da matéria prima a partir de um recipiente, por exemplo, o armazenamento, para um segundo recipiente, por exemplo, o tanque de fermentação, tal como numa biorrefinaria para a produção de etanol. As operações de produção incluem processos para a produção de uma matéria prima de carboidrato que é um produto não fermentado, tal como o açúcar. A conservação previne ou retarda a deterioração associada à atividade microbiana nas matérias primas. As matérias primas são utilizadas para a conversão subsequente em produtos finais através de fermentação ou processos semelhantes, ou a incorporação em outros processos utilizados para produzir produtos finais.

#### **MATÉRIA PRIMA DE CARBOIDRATOS**

Um “carboidrato” conforme utilizado no presente, é um monossacarídeo, um dissacarídeo, um oligossacarídeo ou um polissacarídeo. Os carboidratos, tal conforme utilizado no presente, podem ser monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos, polissacarídeos, ou a

mistura de dois ou mais destes. Os exemplos de monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos são conhecidos pelos técnicos no assunto. O carboidrato é, de preferência, um carboidrato natural. O carboidrato natural pode ou não conter um grupo final redutor. Tais carboidratos são mais prontamente metabolizados e, portanto, mais susceptíveis à deterioração por microorganismos.

Dependendo da utilização pretendida, um carboidrato como matéria prima compreendendo carboidratos não monossacarídeos podem exigir o pré-tratamento, tal como a hidrólise para converter os carboidratos não monossacarídeos em açúcares fermentáveis. Por exemplo, uma matéria prima de carboidrato pode ser constituída por amido de milho em água. O amido de milho é um polissacarídeo formado por unidades individuais de glicose que são ligadas entre si. O amido de milho pode ser pré-tratado para converter o polissacarídeo sequencialmente em polissacarídeos menores (mais curtos) (dextrinas) e em glicose (um monossacarídeo), por exemplo, pelo uso de enzimas.

A matéria prima de carboidrato também pode estar na forma de um mosto. O termo "mosto", tal conforme utilizado no presente, é uma composição compreendendo um açúcar fermentável ou um precursor para um açúcar fermentável. Em geral, o mosto inclui qualquer mistura de grão ou outro carboidrato na água que é utilizada na produção de etanol. O mosto pode se referir a composições contendo carboidratos, utilizadas em qualquer fase de fermentação do etanol, a partir da mistura que ocorre antes do cozimento e/ou da sacarificação de um precursor de açúcar fermentável para a composição produzida após a conclusão da fermentação. O mosto é ainda definido em Jacques, KA, Lyons, TP, Kelsall, D.R., "The Alcohol Textbook", 2003, 426-424, Nottingham University Press, UK.

Uma matéria prima de carboidrato pode ser uma solução ou

suspensão de um açúcar fermentável. Mais especificamente, um açúcar fermentável, conforme utilizado no presente, é uma solução ou suspensão de um carboidrato que é derivado de essencialmente qualquer planta que compreende fonte de amido, açúcar e/ou celulose. Isto é, amido e/ou celulose podem ser convertidos por processos conhecidos no estado da técnica, por exemplo, utilizando enzimas, a açúcares fermentáveis. O açúcar fermentável pode ser derivado de um ou mais de qualquer produto baseado em grão, tais como milho, aparas de madeira, palha de trigo, palha de milho, grama. O açúcar fermentável pode, alternativamente, ser derivado de milo, cevada, milho, sorgo, cana-de-açúcar, beterraba, melão, soro de leite, batata, algas, algas marinhas e outras fontes biológicas. Os processos são conhecidos pelos técnicos no assunto para converter as fontes de plantas em açúcar fermentável. Convenientemente, o açúcar fermentável é derivado a partir de milho, utilizando um processo de moinho a úmido ou moinho a seco para produzir um amido liquefeito. O amido liquefeito sofre sacarificação, em que o amido é colocado em contato com enzimas para converter o amido em glicose, formando assim um açúcar fermentável.

A matéria prima carboidrato pode compreender até 100% em peso de carboidratos. Em geral, a matéria prima carboidrato compreende entre 1% e carboidratos 70% com base no peso total da matéria prima, de preferência, entre 2 e 40%. A quantidade e composição dos carboidratos na matéria prima podem variar dependendo do uso final pretendido. Por exemplo, a água de maceração de milho, que é uma solução de carboidrato é obtida a partir de um processo de moinho molhado, pode compreender 16,5% de carboidratos. Em um processo de moinho a úmido, o milho é embebido ou impregnado e, em seguida, separado em vários componentes. A água de maceração de milho é o líquido aquoso obtido após o milho ser embebido durante um período prolongado, durante o qual os componentes solúveis

prontamente fermentáveis são extraídos a partir dos sólidos do milho na água de maceração. O componente de amido do processo de moinho a úmido pode compreender até 40% em peso de carboidratos.

5 A matéria prima de carboidrato pode compreender outros componentes que funcionam geralmente como adjuntos para as soluções e/ou suspensões. Por exemplo, a matéria prima de carboidrato pode compreender enzimas, tensoativos, dispersantes, composições antiespumantes, minerais, oligoelementos, e combinações de dois ou mais destes. Estes componentes e outros componentes que atuam como adjuntos são bem conhecidos pelos  
10 técnicos no assunto. A matéria prima de carboidrato pode compreender até 70% em peso, com base no peso total da matéria prima de outros componentes, de preferência, a matéria prima de carboidrato compreende de 2 a 40% em peso, de maior preferência, de 2 a 35% em peso de um ou mais dos componentes.

15

### MICROORGANISMOS

Os microorganismos no contexto da presente invenção estão em duas categorias, microorganismos desejáveis e indesejáveis. Os microorganismos desejáveis, tais como a *Saccharomyces cerevisiae* são utilizados para a fermentação de glicose em etanol e dióxido de carbono.  
20 Outros microorganismos desejáveis são utilizados em outros processos de biorrefinaria. Os microorganismos desejáveis não estão normalmente presentes em matérias primas de carboidratos.

Os microorganismos indesejáveis incluem bactérias, fungos, leveduras selvagens ou contaminantes, e outros microorganismos capazes de  
25 metabolizar os componentes de uma matéria prima de carboidrato para sustentar a viabilidade do microorganismo. Os microorganismos indesejáveis contaminam as matérias primas de carboidrato, utilizam a matéria prima como fonte de alimento, se multiplicam e, assim, consomem a matéria prima.

Os microrganismos indesejáveis, tais como leveduras contaminantes são frequentemente encontrados em ambas as produções de etanol industrial e de bebidas, e podem causar graves episódios de contaminação, resultando na produtividade de etanol reduzida. Estes  
5 microrganismos indesejados são introduzidos no processo através da matéria prima, água de processo, ar, operadores e numerosas outras fontes.

Os microrganismos indesejáveis, tais como bactérias, produzem produtos, tais como o ácido acético e ácido láctico a partir de matérias primas de glicose, que não só consomem a matéria prima e, assim, evitam a  
10 conversão de matéria prima em produtos desejados, mas também afetam adversamente microrganismos desejáveis em um processo de biorrefinação. Por exemplo, os ácidos acético e láctico afetam adversamente a taxa na qual a *Saccharomyces cerevisiae* converte glicose em etanol. A presente invenção utiliza SCD para controlar microrganismos indesejáveis, por exemplo, durante o  
15 armazenamento e transporte, preservando a matéria prima.

As matérias primas de carboidratos são uma fonte rica de nutrientes que pode suportar o crescimento de vários microrganismos. As matérias primas de carboidratos, servem vantajosamente como nutrientes para um microrganismo desejável, tal como leveduras na fermentação, e como  
20 materiais de partida para a produção de etanol. No entanto, os microrganismos indesejáveis proliferam na matéria prima de carboidratos nutricionais durante o armazenamento e transporte antes da fermentação ou outro uso final, resultando na deterioração da matéria prima. Além disso, os microrganismos indesejáveis normalmente associados à deterioração das  
25 matérias primas de carboidratos podem ocorrer naturalmente em qualquer material de partida para um processo de biorrefinação, ou podem ser introduzidos a partir de fontes externas, tais como equipamento de processo, impurezas da matéria prima em si, entre outros.

Por “deterioração” de uma matéria prima de carboidrato entende-se a conversão química de um carboidrato na matéria prima de carboidrato resultante da reação do carboidrato ou do consumo do carboidrato pelo microorganismo indesejável. Por exemplo, os microorganismos indesejáveis podem consumir carboidratos como fonte nutricional para o metabolismo dos microorganismos para a sua proliferação. Alternativamente, os microorganismos indesejáveis podem reagir com carboidratos e converter o carboidrato em um composto químico diferente, sem metabolizar o carboidrato. Por exemplo, *Leuconostoc mesenteroides*, uma bactéria que está naturalmente presente no caldo de cana extraído, converte a sacarose, um dissacarídeo, em dextrano, um polissacarídeo. A conversão da sacarose em dextrano resulta em um menor rendimento quando o caldo de cana extraído é utilizado para a fabricação de açúcar cristal. Da mesma forma, a produtividade da fermentação é menor quando o caldo de cana contaminado por *L. mesenteroides* é utilizado na fermentação do etanol.

#### DIÓXIDO DE CLORO ESTABILIZADO

O termo “dióxido de cloro estabilizado” também referido no presente como “SCD” significa um ou mais complexos de oxiclouro contendo dióxido de cloro, um ou mais compostos contendo clorito, um ou mais de outras entidades capazes de transformar dióxido de cloro quando expostas ao ácido e suas combinações. Portanto, o dióxido de cloro estabilizado compreende pelo menos um complexo de oxiclouro contendo dióxido de cloro, um composto contendo clorito, ou uma entidade capaz de transformar dióxido de cloro em um meio líquido, quando exposta ao ácido. O SCD está disponível comercialmente.

Entre o complexo de oxiclouro contendo dióxido de cloro preferido é selecionado a partir do grupo que consiste em um complexo de dióxido de cloro com carbonato, um complexo de dióxido de cloro com bicarbonato e suas misturas. Os exemplos de compostos contendo clorito incluem cloritos de

metais e, em especial, cloritos de metal alcalino e metais alcalino terrosos. Um exemplo específico de um composto contendo clorito, que é útil como um precursor de dióxido de cloro é o clorito de sódio, que pode ser utilizado como clorito de sódio de grau técnico.

5 O SCD é, de preferência, uma solução aquosa de um clorito de metal alcalino ou metal alcalino terroso, tipicamente o clorito de sódio ( $\text{NaClO}_2$ ). O clorito de sódio em solução é geralmente estável a um pH acima de 7, mas libera o dióxido de cloro ativo ( $\text{ClO}_2$ ), quando o pH é reduzido abaixo do neutro (pH 7). A taxa de ativação de SCD, isto é, a taxa à qual o  $\text{ClO}_2$  ativo é liberado  
10 da forma estável, aumenta à medida que o pH diminui.

A composição química exata de muitas composições de SCD, e em particular, de complexos de oxiclora contendo dióxido de cloro, não é completamente compreendida. A fabricação ou a produção de certos precursores de dióxido de cloro são descritas por Gordon, patente US  
15 3.585.147 e Lovely, patente US 3.591.515. Os exemplos específicos de dióxido de cloro estabilizado disponível comercialmente e úteis incluem, por exemplo, ANTHIUM DIOXIDE e FERASURE, disponível pela E.I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington DE; OXINE e PUROGENE, disponível pela Bio-Cide International, Inc., Norman, OK.

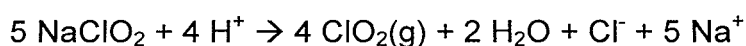
20 O SCD pode ser fornecido como uma solução de um ou mais complexos de oxiclora contendo dióxido de cloro, um ou mais compostos contendo clorito, um ou mais de outras entidades capazes de formar dióxido de cloro quando expostas ao ácido, e suas combinações. A solução fornece SCD em um meio líquido a uma concentração pré determinada de ingredientes  
25 ativos como o dióxido de cloro disponível ( $\text{ClO}_2$ ). De preferência, o meio líquido contém SCD suficiente para apresentar uma concentração de dióxido de cloro disponível no intervalo de cerca de 0,002% a aproximadamente 40% em peso, de preferência, no intervalo de cerca de 2% a cerca de 25% em peso, de maior

preferência, no intervalo de cerca de 5% a cerca de 15% em peso, com base no peso total do meio líquido, incluindo os complexos de oxiclora contendo dióxido de cloro, compostos contendo clorito, outras entidades capazes de formar dióxido de cloro quando expostas ao ácido, e as combinações das mesmas.

O SCD pode ser fornecido como um material sólido, tal como uma composição compreendendo um pó de clorito de metal alcalino ou metal alcalino terroso, ingredientes inertes e, opcionalmente, um ativador seco tal como um ácido seco.

O SCD também pode ser fornecido como uma mistura (ou calda), compreendendo uma solução saturada de pó de clorito de metal alcalino ou alcalino terroso e um pó de clorito de metal alcalino ou alcalino terroso sólido adicional. Tais caldas fornecem um SCD líquido com um maior nível de ingrediente ativo do que o disponível em forma de solução.

A presente invenção é descrita a seguir em termos de SCD como clorito de metal alcalino estabilizado, mais especificamente, clorito de sódio ( $\text{NaClO}_2$ ). Tipicamente, o clorito de sódio é utilizado como uma solução aquosa compreendendo de 5 a 22% em peso, com base no peso da solução de clorito de sódio em água. Daqui em diante as concentrações de SCD serão descritas em termos da concentração de dióxido de cloro disponível quando o clorito é estequiometricamente convertido em dióxido de cloro, "ClO<sub>2</sub> disponível". O teor de dióxido de cloro potencial em 1 g de clorito de sódio é 0,597 g. As soluções de clorito de sódio compreendendo de 5 a 22% em peso de clorito de sódio, contendo assim 2,98 a 13,13% de dióxido de cloro disponível. A geração de ClO<sub>2</sub> é ilustrada pela seguinte equação (1):



em que uma molécula de  $\text{NaClO}_2$  fornece 0,8 moléculas de  $\text{ClO}_2$ .

A presente invenção compreende a utilização de SCD como um

conservante em matérias primas de carboidratos para suprimir a reação do carboidrato ou o consumo do carboidrato por microorganismos. Tal contaminação pode ocorrer na fonte de produção da matéria prima de carboidratos durante o armazenamento, transporte ou outra transferência antes da utilização da matéria prima. As matérias primas de carboidratos então conservadas mantém o teor de carboidratos para utilização, tal como em uma biorrefinaria, ou outro consumo após o armazenamento e o transporte.

O SCO é adicionado à solução de carboidrato no intervalo de 10 mg/kg a 10.000 mg/kg como dióxido de cloro disponível, de preferência, no intervalo de 10 mg/kg a 5.000 mg/kg, de maior preferência, de 50 mg/kg a 1.000 mg/kg, e de maior preferência, ainda, de 100 a 500 mg/kg como dióxido de cloro disponível. O SCO é eficaz quando o pH da solução de carboidrato geralmente varia entre 2,6 e 9.

#### LIMITAÇÕES DE PH

O SCD conforme definido no presente compreende pelo menos um de um complexo de oxiclora contendo dióxido de cloro, um composto contendo clorito, ou uma entidade capaz de transformar dióxido de cloro em um meio líquido, quando exposta ao ácido. Quando o SCD é uma solução aquosa de clorito de sódio, o SCD apresenta um pH superior ao pH 7. As soluções de clorito de sódio liberam o dióxido de cloro ativo ( $\text{ClO}_2$ ), conforme o pH é reduzido. A taxa de liberação de dióxido de cloro a partir de soluções aquosas de SCD aumenta à medida que o pH é reduzido a partir do pH de cerca de 5 a 6 para 2,6. Esta taxa pode variar dependendo de vários fatores. Por exemplo, diferentes precursores de  $\text{ClO}_2$  podem liberar o  $\text{ClO}_2$  em taxas diferentes em pH igual ou semelhante. Outros fatores como a capacidade de tamponamento de uma solução pode afetar a taxa de liberação de  $\text{ClO}_2$  das soluções de SCD. Estes fatores são bem conhecidos pelos técnicos no assunto.

O pH da matéria prima é, tipicamente, pelo menos, pH 2,6. O pH

varia, de preferência, entre um pH de 3 até pH 9, de preferência, de 3,5 a 8, de maior preferência, de 4 a 7, e de maior preferência, ainda, de 4,5 a 7. Se desejado, o pH pode ser aumentado através da adição de uma base, tal como um hidróxido ou carbonato alcalino ou alcalino terroso no intervalo desejado.

5 Do mesmo modo, se desejado, o pH pode ser reduzido pela adição de um ácido, tal como ácido cítrico, ácido clorídrico, ou fosfórico, no intervalo pretendido. Por exemplo, o pH do mosto de milho é geralmente ajustado entre 4,5 e 5,8 para facilitar a eficácia das enzimas de alfa amilase e glicoamilase, respectivamente.

A presente invenção será descrita a seguir em termos de SCD sendo  
10 um clorito de metal alcalino estabilizado, mais especificamente, o mais comum e comercialmente disponível dos cloritos de metais alcalinos, clorito de sódio ( $\text{NaClO}_2$ ). Por clorito de metal alcalino estabilizado entende-se uma solução tamponada do clorito em um pH acima de 7, de preferência, pH de 9 a 10. A solução compreende tipicamente de 5 a 22% p/p de clorito de sódio em água,  
15 embora a concentração de clorito de sódio também possa ser superior ou inferior. Daqui em diante as concentrações de SCD são descritas em termos da concentração de dióxido de cloro disponível como  $\text{ClO}_2$  quando o clorito é estequiometricamente convertido em dióxido de cloro.

#### PROCESSO

20 A presente invenção é um processo para conservar matérias primas de carboidratos compreendendo ou consistindo essencialmente ou consistindo no contato da matéria prima de carboidrato com um dióxido de cloro estabilizado ("SCD"). O SCD inclui cloritos de metais alcalinos e alcalino terrosos. O dióxido de cloro estabilizado compreende pelo menos um de um complexo de oxiclouro  
25 contendo dióxido de cloro, um composto contendo clorito, ou uma entidade capaz de transformar dióxido de cloro em um meio líquido, quando exposta ao ácido. O SCD é adicionado numa quantidade para fornecer de 10 a 10.000 mg/kg de dióxido de cloro total disponível, com base no peso total da matéria prima. De preferência,

SCD é adicionado em uma quantidade para fornecer de 10 a 5.000 mg/kg de dióxido de cloro total disponível, de maior preferência, de 50 mg/kg a 1.000 mg/kg, e de maior preferência, ainda, de 100 a 500 mg/kg, tal como o dióxido de cloro disponível.

5                   No processo da presente invenção, o SCD é colocado em contato com uma matéria prima de carboidrato, tal como um mosto, em uma quantidade eficaz para proteger o carboidrato do crescimento de microrganismos indesejáveis e, assim, para prevenir a deterioração da matéria prima. A deterioração da matéria prima pode ser determinada pelas populações de microrganismos contaminantes  
10 presentes, ou a concentração de metabólitos microbianos, tais como ácidos orgânicos, que geralmente indicam atividade microbiana não intencional e indesejável na matéria prima. Os microorganismos são, assim, substancialmente impedidos de proliferar na matéria prima armazenada ou transportada seguinte à adição de SCD.

15                   Surpreendentemente, a matéria prima de carboidrato tratado de acordo com a presente invenção é estável durante pelo menos um mês. Por “estável” entende-se no presente que a adição de SCD conserva a matéria prima de carboidratos, em que “conservar” é definido anteriormente no presente como a reação de prevenção ou o consumo de carboidratos pelos microrganismos  
20 contaminantes. Uma matéria prima de carboidrato estável não sofre um aumento na população microbiana na matéria prima de mais de  $1 \log_{10}$  CFU/mL ou  $1 \log_{10}$  CFU/g. A CFU, uma abreviatura para a unidade de formação de colônias, é uma medida da população microbiana na matéria prima. CFU é utilizada para determinar o número de células microbianas viáveis em uma amostra por unidade de volume  
25 ou massa por unidade, ou o grau de contaminação microbiana de amostras. Uma segunda medida da mudança é o pH da matéria prima conservada que não deve mudar mais do que 0,5 unidades de pH. No entanto, conforme afirmado anteriormente, a mudança de pH pode não ser suficiente em todas as

circunstâncias para monitorar a conservação de uma matéria prima de carboidrato.

A matéria prima de carboidrato pode ser uma solução ou suspensão aquosa compreendendo monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos, polissacarídeos, ou suas misturas. A matéria prima de carboidrato pode compreender um açúcar fermentável, em particular, quando a matéria prima é destinada para a utilização na produção de produtos de açúcar (tal como o açúcar de mesa ou melaço) para consumo humano ou para utilização em fermentação de etanol combustível. A matéria prima de carboidrato pode compreender até 100% em peso de carboidratos. Em geral, a matéria prima de carboidrato compreende entre 1% e 70% de carboidratos com base no peso total da matéria prima, de preferência, entre 2 e 40%.

Surpreendentemente, o processo é eficaz na ausência de ácido adicionado para gerar dióxido de cloro. Por “ausência de ácido adicionado” entende-se no presente que nenhum ácido é adicionado ou outro método, tal como oxidação, utilizado para gerar dióxido de cloro. O processo é tipicamente realizado a um pH de pelo menos 2,6. O pH varia, de preferência, entre um pH de 3 até pH 9, de maior preferência, de 3,5 a 8, de maior preferência, ainda, de 4 a 7, e de maior preferência, ainda, de 4,5 a 7.

Em uma segunda realização, o SCD é colocado em contato com uma matéria prima de carboidrato em uma operação unitária na qual os microorganismos começaram a deteriorar a matéria prima. Embora a perda de carboidratos seja irreversível, a deterioração pode ser interrompida e a matéria prima conservada para processamento subsequente dos carboidratos. Nesta forma de realização, o SCD é adicionado numa quantidade para fornecer de 50 a 10.000 mg/kg de dióxido de cloro total disponível, com base no peso total da matéria prima. De preferência, o SCD é adicionado numa quantidade para fornecer de 100 a 5.000 mg/kg, de maior preferência, de 100 a 1.000 mg/kg de

dióxido de cloro total disponível.

As matérias primas de carboidratos conservadas com SCD, de acordo com o processo da presente invenção, podem ser utilizadas na fermentação e outros processos de biorrefinaria. O teor de SCD, a concentração de carboidratos e o pH podem variar dependendo dos parâmetros dos processos específicos desejados. Estas variações são bem conhecidas pelos técnicos no assunto.

Na presente invenção, o SCD é utilizado como um conservante para as matérias primas de carboidratos para impedir a atividade do microorganismo contaminante e subsequente deterioração da matéria prima de carboidrato. Os microorganismos contaminantes incluem bactérias conforme descritas no documento WO 2007/19450 e levedura contaminante conforme descrito no pedido de patente US 12/467.728, depositado em 18 de maio de 2009. O SCD inibe o crescimento de certas bactérias que causam a decomposição indesejável de carboidratos, tais como açúcares simples em ácidos deletérios e também reduzem seletivamente a atividade de leveduras contaminantes.

O SCD pode ser utilizado para controlar a contaminação microbiológica de matérias primas de carboidratos, tais como o açúcar à base de matérias primas e matérias primas de celulose. Matérias primas de celulose incluem material vegetal não transformados, como a grama, ou subprodutos agrícolas, como palha e bagaço de milho. As matérias primas à base de açúcar incluem o caldo de cana e o melaço.

Em certos processo de biorrefinaria, o pH do caldo de cana recém processado ou melaço é de cerca de 5 (geralmente entre pH 4,5 e pH 5,5). O caldo de cana contém de 10 a 15% de sacarose enquanto que o melaço contém até 50% de sacarose. Nesta realização, o SCO é colocado em contato com o caldo de cana ou de melaço. Este contato pode ser imediatamente após a produção, o que é benéfico para impedir a atividade do microorganismo se o produto for destinado à armazenagem ou transporte. O caldo de cana e melaço

tendem a apresentar níveis naturalmente altos de contaminação por microorganismos que contribuem para a deterioração do caldo de cana ou melaço. Assim, o contato com SCD, de acordo com a presente invenção, aumenta a vida útil de armazenamento destes produtos, reduzindo a capacidade de destruição de microorganismos para crescer e deteriorar o caldo ou melaço. Dependendo do pH e da concentração de sacarose (carboidrato), uma dose de 200 a 1.500 mg/kg de SCD como o  $\text{ClO}_2$  disponível (por exemplo, 335 a 2.510 mg/kg de clorito de sódio, com base no peso de matéria prima total) é suficiente para impedir o crescimento de microorganismos no suco de cana ou de melaço.

Assim, no processo da presente invenção, há melhoria na armazenagem e transporte de matéria prima de carboidrato através da redução da deterioração melhorando assim a operação das operações a jusante, tais como a fermentação.

#### EXEMPLOS

Os exemplos demonstram a conservação de carboidratos armazenados na presença de SCD. Nestes exemplos, o SCD é uma solução tamponada de cloreto de sódio (21% p/p) com um pH de 9,2, disponível pela E.I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE.

#### EXEMPLO 1

Neste Exemplo, o SCD foi utilizado para controlar o crescimento de bactérias de deterioração em melaço. O melaço (disponível pela B&G Foods, Inc., Roseland, NJ, teor de carboidratos de cerca de 50%) foi diluído em 3,1 partes de água para modelar as condições industriais. A solução do melaço diluída foi esterilizada em autoclave a uma temperatura de 121° C. O pH da solução esterilizada foi de 5,32. A solução foi então dividida em 7 amostras de 75 mL individuais em frascos de 125 mL individuais. O SCD foi adicionado a cada frasco para fornecer um intervalo de concentrações de 0 a 450 mg/kg, com base em  $\text{ClO}_2$

disponível.

O *Lactobacillus brevis* e *Lactobacillus plantarum*, bactérias conhecidas por contaminar a produção industrial de etanol, foram utilizados neste exemplo. As bactérias foram cultivadas separadamente durante a noite em caldo de Man Rogosa e Sharpe (MRS) (disponível pela Difco Laboratories, Inc., Sparks, MD) a 32° C. As bactérias foram então misturadas e inoculadas em amostras individuais para fornecer cerca de 10<sup>5</sup> bactérias/mL (como unidades formadoras de colônias/mL, expressas como “5 log<sub>10</sub> CFU/mL”).

O total de bactérias viáveis nas amostras do presente foi medido como uma concentração de unidades formadoras de colônias (CFU) por unidade de volume (isto é, CFU/mL) de amostra. Existe uma correlação direta entre a concentração de bactérias nas amostras e a medida de CFU. Assim, quanto maior a concentração de bactérias, a maior seria a CFU e vice-versa. Como convenção, as CFUs são transformadas matematicamente em valores logarítmicos (Log<sub>10</sub> CFU) para simplificar as comparações entre diferentes tratamentos.

A capacidade do SDC de inibir o crescimento de *L. brevis* e *L. plantarum* foi medida através do plaqueamento de amostras de cada frasco. Em intervalos de 24 horas (h), as amostras foram retiradas de cada frasco, diluídas utilizando solução salina tamponada com fosfato estéril (disponível pela Inc., Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) e plaqueada (0,1 mL) sobre a superfície de placas MRS. As placas foram incubadas a 32° C e as colônias resultantes foram contadas, os resultados são mostrados na Tabela 1.

**TABELA 1**

**RESPOSTA DO *L. BREVIS* E *L. PLANTARUM* NO TRATAMENTO COM DIÓXIDO DE CLORO**

**ESTABILIZADO A 32° C EM MELAÇOS DILUÍDOS**

Concentração de SCD	Log <sub>10</sub> CFU/mL		
	0 h	24 h	48 h
0 mg/kg	5,0	8,53	9,3

Concentração de SCD	Log <sub>10</sub> CFU/mL		
	0 h	24 h	48 h
37,5 mg/kg	5,0	8,79	8,88
75 mg/kg	5,0	2,27	3,38
112,5 mg/kg	5,0	< 1	< 1
150 mg/kg	5,0	< 1	< 1
300 mg/kg	5,0	< 1	< 1
450 mg/kg	5,0	< 1	< 1

A Tabela 1 mostra que a concentração inicial de bactérias em todas as amostras foi de 5,0 log<sub>10</sub> CFU/mL de melaço como inoculado e análogo ao que pode ser observado em escala industrial. A amostra controle que não recebeu nenhum tratamento SCD permitiu que as bactérias crescessem a partir de 5,0 log<sub>10</sub> CFU/mL a 8,53 log<sub>10</sub> CFU/mL em 24 h, e a 9,3 log<sub>10</sub> CFU/ml após 48 h, ambas a 32° C. O tratamento com 37,5 mg/kg de SCD limitou o crescimento a 8,88 log<sub>10</sub> CFU/mL após 48 h. O tratamento com 75 mg/kg de SCD reduziu a concentração de bactérias na amostra de 5,0 a 2,26 log<sub>10</sub> CFU/mL após 24 h, e para 3,38 log<sub>10</sub> CFU/mL após 48 h. Em todas as concentrações de SCD superior a 100 mg/kg testadas, o número de *L. brevis* e *L. plantarum* que pode ser recuperado a partir das amostras de melaço estava abaixo do limite detectável. A Tabela 1 indica que o tratamento com SCD nestas concentrações é capaz de inibir o crescimento de bactérias e, portanto, reduzir a deterioração bacteriana do melaço destinado a ser utilizado como matéria prima.

15

### EXEMPLO 2

A taxa de liberação de dióxido de cloro (geração) a partir de SCD foi determinada por ativação utilizando ácido láctico, um ácido comum produzido por bactérias contaminantes encontrados em matérias primas de carboidratos. Neste exemplo, uma solução de 250 mg/L de SCD foi acidificada com ácido láctico para gerar ClO<sub>2</sub> à temperatura ambiente. Uma solução de SCD aproximada de 250 mg/L foi produzida por diluição de um estoque

20

FermaSure® XL com água. As porções da solução de 250 mg/L de SCD foram, em seguida, acidificadas em pH entre 2,2 e 3,2 utilizando uma solução diluída, < 2%, solução de ácido láctico. Um medidor de pH Accumet 25 (disponível pela Fischer Scientific Company, Fair Lawn, NJ) foi utilizado para monitorizar a solução de pH da solução. A solução de 250 mg/L acidificada foi então analisada quanto a concentração de ClO<sub>2</sub>, utilizando um espectrofotômetro DR/2000 HACH (disponível pela Hach Company, Loveland, CO), que foi calibrado a 400 nm, 420nm e 445 nm para ClO<sub>2</sub>. Os dados do espectrofotômetro foram coletados em intervalos de 10 segundos, utilizando um computador DELL e um software de registro de dados HACH Link 2000, por até 24 horas. Um resumo dos dados da geração de ClO<sub>2</sub> está na Tabela 2.

**TABELA 2****TAXA DE LIBERAÇÃO DE ClO<sub>2</sub> VERSUS TEMPO**

pH	ClO <sub>2</sub> formado após o tempo (mg/kg)						
	1 h	4 h	8 h	12 h	16 h	20 h	24 h
2,2	21	47	63	78	89	98	105
2,4	8	25	40	52	61	69	72
2,6	5	14	23	32	39	44	48
2,8	3	9	15	20	25	29	32
3,0	2	7	12	17	20	22	25
3,2	1	4	7	9	12	12	ND*

\*Não determinado.

A Tabela 2 mostra que a liberação de dióxido de cloro a partir de SCD é relativamente lenta, mesmo em pH baixo. Assim, quando o SCD é colocado em contato com uma matéria prima de carboidrato, em pH de pelo menos 2,6, sem a adição de ácido, é surpreendente que o SCO tenha um efeito conservante. Isto é, o crescimento de bactérias, que ocorre através do consumo de carboidratos, é substancialmente impedido quando a concentração de ClO<sub>2</sub> é prevista como sendo muito baixa.

### REIVINDICAÇÕES

1. PROCESSO PARA CONSERVAR UMA SOLUÇÃO DE CARBOIDRATO CONTRA MICROORGANISMOS, caracterizado pelo fato de que compreende ou consiste essencialmente de ou consiste no contato da solução ou suspensão de carboidrato com um dióxido de cloro estabilizado a um pH de pelo menos 2,6, em que a concentração do carboidrato é de pelo menos 1% em peso da matéria prima e a quantidade de dióxido de cloro estabilizado adicionada é de 10 a 10.000 mg/kg como  $\text{ClO}_2$ , com base no peso da matéria prima total.
2. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a concentração do carboidrato na matéria prima é de 1,0 a 70% com base no peso da matéria prima total e o pH é de pelo menos 3.
3. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a matéria prima de carboidrato é uma solução ou suspensão de um açúcar fermentável.
4. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a matéria prima de carboidrato ainda compreende enzimas, tensoativos, dispersantes, composições antiespumantes, minerais, elementos traço e combinações de dois ou mais dos mesmos.
5. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a matéria prima de carboidrato é uma matéria prima de celulose.
6. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o dióxido de cloro estabilizado é um ou mais compostos contendo clorito.
7. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que o um ou mais compostos contendo clorito é uma

solução aquosa de um clorito de metal alcalino.

8. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que o clorito de metal alcalino é um clorito de sódio.

5 9. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o pH é de 3 a 9.

10. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o pH é de 4 a 7.

10 11. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a quantidade de dióxido de cloro estabilizado adicionada é de 50 a 1.000 mg/kg, com base no peso total da matéria prima.

**RESUMO****“PROCESSO PARA CONSERVAR UMA SOLUÇÃO DE CARBOIDRATO  
CONTRA MICROORGANISMOS”**

A presente invenção se refere a um processo para conservar uma  
5 matéria prima de carboidratos contra microorganismos contaminantes que  
compreende o contato da matéria prima do carboidrato com um dióxido de  
cloro estabilizado a um pH de pelo menos 2,6. A matéria prima de carboidrato  
compreende um carboidrato natural, em particular, um carboidrato com um  
grupo final redutor. O processo é particularmente adequado para tratar  
10 matérias primas utilizadas em processos de biorrefinaria, tal como na  
fermentação do etanol.