

Considerações Sobre o Bioetanol Lignocelulósico para Subsidiar a Elaboração de Conteúdo da Árvore do Conhecimento Agroenergia





*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Informática Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1677-9274
novembro, 2009

Documentos 95

Considerações Sobre o Bioetanol Lignocelulósico para Subsidiar a Elaboração de Conteúdo da Árvore do Conhecimento Agroenergia

*José Gilberto Jardine
Ivanilde Dispató
Mariana Rodrigues Peres*

Embrapa Informática Agropecuária
Campinas, SP
2009

Embrapa Informática Agropecuária

Av. André Tosello, 209 - Barão Geraldo
Caixa Postal 6041 - 13083-886 - Campinas, SP
Fone: (19) 3211-5700 - Fax: (19) 3211-5754
www.cnptia.embrapa.br
sac@cnptia.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Silvia Maria Fonseca Silveira Massruhá*

Membros: *Poliana Fernanda Giachetto, Roberto Hiroshi Higa, Stanley Robson de Medeiros Oliveira, Marcia Izabel Fugisawa Souza, Adriana Farah Gonzalez, Neide Makiko Furukawa, Suzilei Almeida Carneiro*

Membros suplentes: *Alexandre de Castro, Fernando Attique Máximo, Paula Regina Kuser Falcão, Maria Goretti Gurgel Praxedes*

Supervisor editorial: *Neide Makiko Furukawa, Suzilei Almeida Carneiro*

Revisor de texto: *Adriana Farah Gonzalez*

Normalização bibliográfica: *Marcia Izabel Fugisawa Souza*

Editoração eletrônica: *Área de Comunicação e Negócios*

Secretária *Suzilei Almeida Carneiro*

1ª edição on-line 2009

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Informática Agropecuária

Jardine, José Gilberto.

Considerações sobre o bioetanol lignocelulósico para subsidiar a elaboração de conteúdo da *Árvore de Conhecimento Agroenergia*. / José Gilberto Jardine, Ivanilde Dispatto, Mariana Rodrigues Peres. – Campinas, SP : Embrapa Informática Agropecuária, 2009.

28 p. : il. – (Documentos / Embrapa Informática Agropecuária ; 95).

ISSN 1677-9274

1. Bioetanol. 2. Bioetanol lignocelulósico. 3. Biodiesel. 4. Biocombustível. 5. Agroenergia. 6. Biomassa. 7. Organização da informação. 8. Informação tecnológica. 9. *Árvore de conhecimento*. I. Dispatto, Ivanilde. II. Peres, Mariana Rodrigues. III. Título. IV. Série.

CDD – 22nd ed
662
669.2

Autores

José Gilberto Jardine

Pós-doutor em Bioinformática
Pesquisador A da Embrapa Informática Agropecuária
Av. André Tosello, 209, Barão Geraldo
Caixa Postal 6041 - 13083-970 - Campinas, SP
Telefone: 19-3211-5769
e-mail: jardine@cnptia.embrapa.br

Ivanilde Dispatto

Especialista em Comunicação e Expressão
Assistente aposentada da Embrapa Informática
Agropecuária
Campinas, SP

Mariana Rodrigues Peres

Estagiária da Embrapa Informática Agropecuária
Av. André Tosello, 209, Barão Geraldo
Caixa Postal 6041 - 13083-970 - Campinas, SP
Telefone: 19-3211-5769
e-mail: marianaperes@click21.com.br

Apresentação

O bioetanol pode ser obtido a partir de qualquer biomassa que contenha quantidades significativas de carboidratos, particularmente amido ou açúcares (sacarose, glicose, frutose, maltose).

Considerando a produção com base em biomassa açucarada, como é o caso da cana-de-açúcar e da beterraba açucareira, o processo é mais simples envolvendo menos operações unitárias, uma vez que os açúcares disponíveis na biomassa são diretamente fermentáveis.

Isto faz com que etapas de hidrólise, comum nas matérias-primas amiláceas, sejam dispensadas. Simplificadamente, o processo consiste na extração dos açúcares que podem seguir diretamente para a fermentação.

A produção de bioetanol utilizando matéria-prima lignocelulósica (biocombustíveis de segunda geração) ainda está em fase de desenvolvimento nos laboratórios e plantas-piloto das instituições de pesquisa.

A produção comercial do bioetanol a partir dessa matéria-prima será possível, mas exigirá o domínio de tecnologias ainda não completamente desenvolvidas que atualmente são complexas, com baixo rendimento na conversão da matéria-prima em bioetanol, balanço energético negativo e com custo de produção elevado.

Os dados aqui apresentados servirão de subsídio a elaboração de textos sobre as alternativas tecnológicas de processos para se obter bioetanol lignocelulósico. Esses textos serão disponibilizados para consulta no site da Embrapa, no âmbito da Agência Embrapa de Informação: Árvore do Conhecimento Agroenergia, que se encontra em fase de desenvolvimento.

Kleber Xavier Sampaio de Souza
Chefe-Geral
Embrapa Informática Agropecuária

Sumário

Introdução.....	9
Bioetanol.....	10
Matéria-prima Lignocelulósica.....	12
Celulose.....	12
Hemicelulose.....	14
Lignina.....	14
Bioetanol Lignocelulósico.....	15
Pré-tratamento do material lignocelulósico.....	16
Hidrólise do material lignocelulósico.....	17
Fermentação alcoólica do material lignocelulósico resultante da hidrólise.....	19
Fermentação alcoólica dos carboidratos obtidos da hidrólise.....	22
Experiências Piloto para Obtenção de Bioetanol Lignocelulósico....	24
Bibliografia.....	26

Considerações Sobre o Bioetanol Lignocelulósico para Subsidiar a Elaboração de Conteúdo da Árvore do Conhecimento Agroenergia

*José Gilberto Jardine
Ivanilde Dispato
Mariana Rodrigues Peres*

Introdução

De acordo com a previsão da Agência Internacional de Energia (AIE) até o ano de 2030, os biocombustíveis representarão cerca de 7% do combustível utilizado no transporte, sendo a União Européia, os Estados Unidos e o Brasil os principais produtores e consumidores.

Esse crescimento no mercado internacional é esperado devido ao aumento do preço do petróleo e, também porque os países desenvolvidos que assinaram o Protocolo de Kyoto se comprometeram a reduzir suas emissões de gases poluentes (BRASIL, 2005).

Os constantes conflitos envolvendo os países do Oriente Médio, que estão nas regiões das reservas de petróleo, causam instabilidade ao suprimento e oscilações nos preços dos combustíveis fósseis, forçando vários países a buscarem alternativas que possibilitem reduzir a dependência em relação às importações desse produto.

Todos esses fatores, cuja importância varia de país para país, vêm criando oportunidades para a viabilização econômica de novas fontes de energia de biomassa.

O uso do etanol, biodiesel, carvão vegetal, biogás e energia obtida a partir de resíduos do agronegócio desperta interesse crescente em muitos países, não restando dúvidas de que ocupará posição de destaque na economia mundial no futuro próximo.

O bioetanol pode ser obtido de diferentes matérias-primas, cada qual com um custo de produção e um valor de venda.

O preço mínimo do bioetanol para os produtores deve atender a dois pressupostos: cobrir os custos de produção que incluem os custos da matéria-prima, os custos operacionais da planta de produção e os custos de capital correspondentes aos investimentos; ser igual ou superior aos resultados que seriam obtidos, caso a matéria-prima se destinasse à fabricação de produtos alternativos.

A informação sempre foi um insumo importante para o agronegócio, tanto na produção quanto na comercialização. Com o crescimento do porte, da competitividade e, por consequência, da complexidade da agricultura brasileira nos últimos anos, o conhecimento virou uma ferramenta ainda mais essencial.

Bioetanol

A cana-de-açúcar é a segunda maior fonte de energia renovável do Brasil, com 12,6% de participação na matriz energética atual, considerando-se o álcool combustível (bioetanol) e a co-geração de eletricidade, a partir do bagaço (BRASIL, 2005).

O etanol empregado na indústria química na fabricação de bebidas tem a função de carburante, é hoje a principal bioenergia utilizada no mundo.

Entre 2000 e 2004, a produção mundial de etanol cresceu 46,8%, atingindo 41 bilhões de litros, dos quais quase 73% foram usados como combustível.

Os maiores produtores e consumidores do etanol são o Brasil e os Estados Unidos que, juntos, foram responsáveis por quase 72% da produção e do consumo mundial em 2004, seguidos pela China (8,9%), pela União Européia (5,3%) e pela Índia (4%), que utilizam o biocombustível misturado à gasolina em diferentes percentuais (RODRÍGUEZ, 2007).

O bioetanol pode ser obtido a partir de qualquer biomassa rica em carboidratos em sua composição, particularmente açúcares (sacarose, glicose, frutose, maltose) ou amido.

Considerando a produção com base em biomassa açucarada, como é o caso da cana-de-açúcar e da beterraba açucareira, o processo é mais simples envolvendo um número menor de operações unitárias, uma vez que os açúcares disponíveis na biomassa são diretamente fermentáveis, dispensando etapas de tratamento como, por exemplo, a hidrólise que é comum nas matérias-primas compostas fundamentalmente por amido.

Simplificadamente, o processo consiste na extração dos açúcares (por meio da moagem e/ou da difusão), que podem seguir diretamente para a fermentação. Após a fermentação, o vinho obtido é destilado (STEFANO, 2008; GODEMBERG; MACEDO, 1994; GODEMBERG et al., 2008). A Figura 1 sintetiza as rotas tecnológicas para produção de bioetanol, considerando as diferentes matérias-primas.

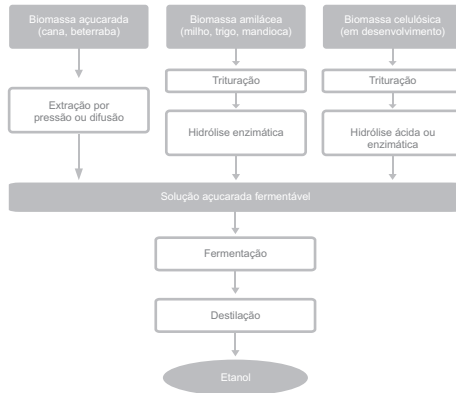


Figura 1. Rotas tecnológicas alternativas para produção de bioetanol.
Fonte: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (2008).

Dos 51 bilhões de litros de bioetanol produzidos em 2006, a produção norte-americana, usando milho como matéria prima, e a brasileira, com a cana-de-açúcar, representaram 72% do total. Este resultado pode ser observado no Gráfico 1 (RENEWABLE FUELS ASSOCIATION, 2008).

Outro dado importante com referência às matérias-primas é que cerca de 53% do bioetanol produzido no mundo deriva de matérias-primas amiláceas, como milho, trigo, sorgo e outros cereais e grãos (REDDY, 2004).

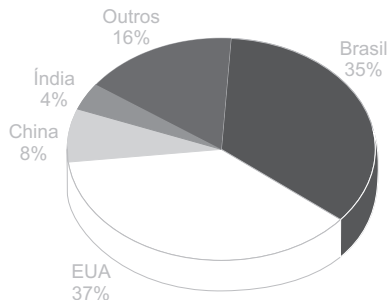


Gráfico 1. Distribuição da produção mundial de etanol.
Fonte: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (2008).

Matéria-prima Lignocelulósica

Resíduos agrícolas como bagaço e palha de cana-de-açúcar, cascas, gramíneas e resíduos florestais que são tradicionalmente queimados ou descartados, podem ser matérias-primas para obtenção de bioetanol.

O uso do bagaço da cana-de-açúcar, por exemplo, no Brasil, é uma forma de aumentar a produção do bioetanol sem aumentar a área plantada de cana-de-açúcar no país.

Constituídos por 40%-60% de celulose (polímero de glicose), 20%-40% de hemicelulose (heteropolímero formado por pentoses, açúcares de cinco carbonos) e 10%-25% de lignina, os resíduos vegetais formam uma estrutura complexa e compacta.

A lignina atua como uma cola entre a celulose e a hemicelulose, que são os principais elementos estruturais da parede celular, sendo necessária sua retirada para a celulose e a hemicelulose sejam convertidas em açúcares.

O etanol lignocelulósico é uma alternativa para aumentar significativamente a produção de etanol no mundo, particularmente dos países do hemisfério norte onde a cana-de-açúcar não tem um bom desenvolvimento.

Celulose

O principal componente das fibras vegetais é a celulose. É um homopolímero formado por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas do tipo beta 1-4.

A celobiose é definida como a unidade mínima da celulose, enquanto que a glicose representa a unidade fundamental das cadeias. O grau de polimerização da cadeia de celulose varia de acordo com fonte e com o grau de maturação da parede celular.

O grau de polimerização na madeira é de cerca de 2.500 unidades de glicose, enquanto que no algodão é cerca de 11.000 unidades. A massa molecular varia muito (50.000 a 2.500.000), em função da origem, como pode ser observado na Figura 2.

Em sua estrutura supramolecular, a celulose apresenta regiões altamente ordenadas, estabilizadas por um número elevado de pontes de hidrogênio intra e intermolecular, denominada de região cristalina, que são regiões menos ordenadas ou amorfas onde as cadeias apresentam uma orientação randonizada.

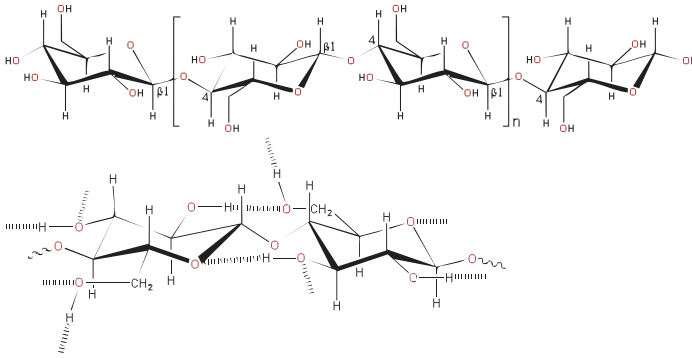


Figura 2. Polímero de celulose com as ligações de hidrogênio intra e intercelulares.

A proporção da parte cristalina em cadeias de celulose depende da origem e processo de obtenção da celulose. O grau de cristalinidade medido por difração de raio X varia de 50% a 70%.

Também medidas pelo mesmo processo indicam que a cada 500 Angstroms de celulose cristalina, a estrutura apresenta regiões amorfas, como podem ser representadas na Figura 3.

As regiões amorfas são mais suscetíveis a hidrólise devido a sua maior área superficial e facilidade de penetração das moléculas de água no interior das fibras.

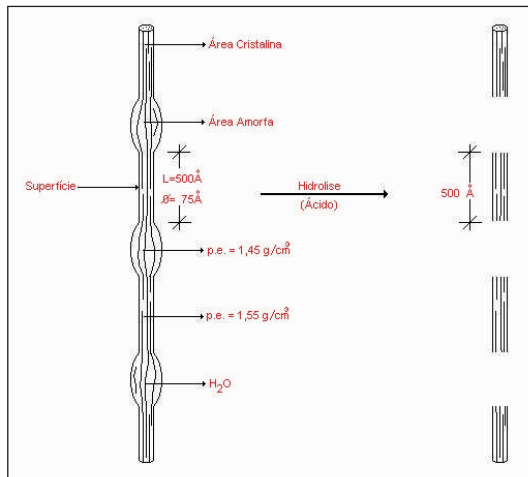


Figura 3. Regiões cristalinas e regiões amorfas na estrutura da celulose.
Fonte: Klock (2008).

Hemiceluloses

As hemiceluloses são caracterizadas como uma família de eteropolímeros de baixa massa molecular, associados com a celulose (polioses).

Enquanto a celulose, como substância química, contém exclusivamente glicose, como unidade fundamental, as polioses são polímeros cuja composição pode aparecer as seguintes unidades de açúcar: xilose, manose, glucose, arabinose, galactose, ácido galacturônico, ácido glucurônico e ácido metil glucurônico como representado na Figura 4.

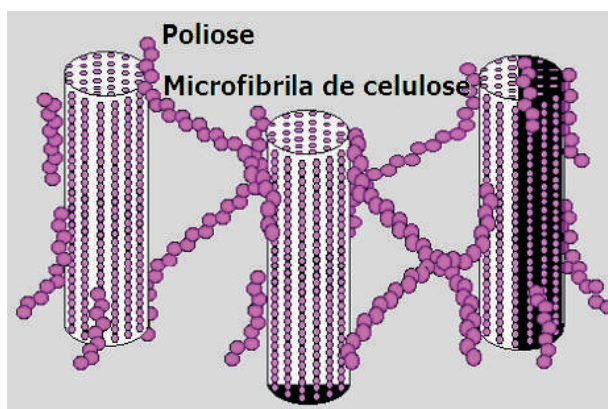


Figura 4. Ligações polioses (hemiceluloses) com celulose (microfibrilas).
Fonte: Klock (2008).

O termo polioses não designa um composto químico definido, mas uma classe de componentes poliméricos presentes em vegetais fibrosos, possuindo cada componente propriedades peculiares.

O teor e a proporção dos diferentes componentes encontrados nas polioses varia grandemente com a espécie vegetal. A hemicelulose é muito mais fácil de ser hidrolisada do que a celulose.

Lignina

A lignina, como a celulose, também é um polímero, mas difere desta porque é predominantemente um composto aromático, e porque é altamente irregular em sua constituição e estrutura molecular.

É constituída de unidades de fenil-propano, unidas por ligações C-O-C e C-C e com diferentes teores de grupos alcóolicos e metoxílicos dependendo da origem, A estrutura destes compostos podem ser observadas na Figura 5.

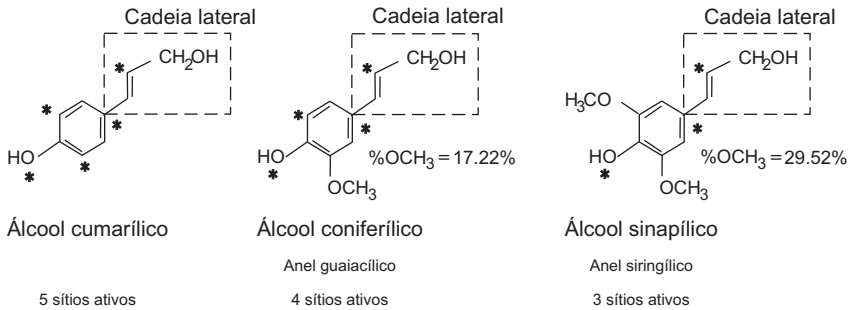


Figura 5. Precursores majoritários da lignina.
Fonte: Martins (2005).

A lignina é encontrada em muitas plantas do reino vegetal, porém sua constituição não é a mesma em todas elas. Portanto, a lignina não deve ser considerada como uma substância química única, mas sim como uma classe de material correlato.

Apesar de ser possível produzir diversos produtos com base na lignina, atualmente o foco dos estudos tem se voltado para o uso desse material como fonte de energia para os processos de obtenção do bioetanol de origem lignocelulósico, o que garantiria a auto-suficiência energética para o processo.

Bioetanol lignocelulósico

O etanol obtido a partir da biomassa lignocelulósica é denominado de biocombustíveis de segunda geração por ser obtido de matéria-prima não convencional (açúcares e amido).

A produção comercial do bioetanol a partir dessa matéria-prima será possível, mas exigirá o domínio de tecnologias ainda não completamente desenvolvidas que atualmente são complexas, com baixo rendimento na conversão da matéria-prima em bioetanol, balanço energético negativo e com custo de produção elevada.

Essas tecnologias correspondem aos processos que compreendem as operações de deslignificação com a separação das frações de celulose e

hemicelulose (pré-tratamento) e as etapas de hidrólise ácida (processo químico) ou hidrólise enzimática (processo biotecnológico), para se chegar aos açúcares a partir da celulose e da hemicelulose e, então, por fermentação, inclusive das pentoses, produzir o bioetanol.

Desde o fim do século XIX bioetanol vem sendo produzido experimentalmente pela hidrólise e fermentação de matéria-prima lignocelulósica, mas apenas nos últimos anos é que as pesquisas se intensificaram em todo mundo.

Os principais programas de P&D são conduzidos nos Estados Unidos e na Europa em escala experimental de produção, mas seu sucesso poderia transformar o bioetanol em um biocombustível passível de ser produzido em quase todas as regiões do mundo, ao aproveitar a alta disponibilidade de resíduos orgânicos ricos em celulose e hemicelulose (GRAY et al., 2006; MACEDO, 2005).

As tecnologias para a obtenção de bioetanol com base em material lignocelulósico consistem no pré-tratamento desse material, objetivando a separação da lignina da celulose e da hemicelulose, seguido da hidrólise dos polissacarídeos da biomassa em açúcares fermentescíveis e sua posterior fermentação para a produção do bioetanol e etapas subseqüentes de separação e purificação, semelhantes às utilizadas para obtenção do bioetanol de cana-de-açúcar ou de amido.

Pré-tratamento do material lignocelulósico

O processo de obtenção de bioetanol lignocelulósico consiste no pré-tratamento desse material, para que seja separada a lignina da celulose e da hemicelulose.

Atualmente, as tecnologias promissoras de pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar consistem no processo físico/químico de explosão à vapor, (“*Steam Explosion*”), na presença de catalisador, no processo de tratamento com vapor (“*Steam Treatment*”) em presença de catalisador ácido ou água quente pressurizada (“*Hot Water*”). Mas, estas tecnologias necessitam de mais desenvolvimento.

Na Tabela 1, são apresentados os processos mais utilizados para o pré-tratamento da matéria-prima lignocelulósica. A separação do processo em pré-tratamento e hidrólise causa confusão, uma vez que, os processos definidos como pré-tratamento da matéria-prima lignocelulósica consistem em processos de hidrólise.

Tabela 1. Processos para pré-tratamento da biomassa para hidrólise.

Processo	Descrição	Tempo de reação	Rendimento de xilose	Custo*
Físicos				
Explosão de vapor	A biomassa triturada é tratada com vapor (saturado, 160° - 260°C) seguido de uma rápida descompressão	1-10 min	45%-65%	—
Termoidrólise	Utiliza água quente a alta pressão (pressões acima do ponto de saturação) para hidrolisar a hemicelulose	30 min	88%-98%	—
Químicos				
Hidrólise ácida	Por meio do uso de ácidos sulfúrico, clorídrico, ou nítrico, concentrados ou diluídos	2-10 min	75%-90%	+
Hidrólise alcalina	Pelo uso de bases, como hidróxidos de sódio ou cálcio	2 min	60%-75%	++
Organosolv	Uma mistura de um solvente orgânico (metanol, bioetanol e acetona, por exemplo) com um catalisador ácido (H ₂ SO ₄ , HCl) é usada para quebrar as ligações internas da lignina e da hemicelulose	40-60 min	70%-80%	
Biológicos	Utilização de fungos para solubilizar a lignina. Geralmente, é utilizada em combinação com outros processos			
Combinados				
Explosão de vapor catalisada	Adição de H ₂ SO ₄ (ou SO ₃) ou CO ₂ na explosão de vapor pode aumentar a eficiência da hidrólise enzimática, diminuir a produção de compostos inibidores e promover uma remoção mais completa da hemicelulose	1-4 min	88%	—
Afex (ammonia fiber explosion)	Exposição à amônia líquida a alta temperatura e pressão por um certo período de tempo, seguida de uma rápida descompressão		50%-90%	
Explosão de CO ₂	Simila à explosão de vapor		75%	

Fonte: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (2008).

* O sinal + indica efeito vantajoso (menor custo).

Hidrólise do material lignocelulósico

A etapa de hidrólise (sacarificação) tem como objetivo a redução das macromoléculas de celulose e de hemicelulose, através da adição de ácido sulfúrico aos resíduos, para que seja feita uma hidrólise ácida, ou através da ação de enzimas, hidrólise enzimática para obter açúcares fermentescíveis.

A Tabela 2 apresenta uma comparação entre os diferentes processos de hidrólise em termos de insumos e rendimento na sacarificação (hidrólise).

Tabela 2. Processos de hidrólise (sacarificação) de material lignocelulósico.

Processo	Insumo	Temperatura	Tempo	Sacarificação
Ácido diluído	< 1% H ₂ SO ₄	215°C	3 min	50%-70%
Ácido concentrado	30%-70% H ₂ SO ₄	40°C	2-6 h	90%
Enzimático	Celulase	70°C	1,5 dia	75%-95%

Fonte: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (2008).

A hidrólise catalisada por ácido forte ou fraco é realizada em duas etapas em função do substrato ser composto por uma mistura de celulose e hemicelulose.

Na primeira etapa se processa a hidrólise da hemicelulose. Já na segunda etapa são empregadas temperaturas mais altas, objetivando otimizar a hidrólise da fração celulósica (DIPARDO, 2000).

O processo com ácido diluído utiliza altas temperaturas e pressões, com tempos de reação de segundos a minutos, o que facilita o uso de processos contínuos. Já os processos com ácido concentrado são conduzidos em condições mais brandas de temperatura, mas com tempos de reação mais longos (GRAF; KOEHLER, 2000).

No processo enzimático, a hidrólise é catalisada por um complexo de enzimas caracterizado comercialmente como celulases compostas por endoglucanases (que agem especificamente na catálise da hidrólise das cadeias de celulose produzindo polissacarídeos de menor comprimento), exoglucanases (que catalisam especificamente as extremidades não-redutoras dessas cadeias mais curtas, originando a celobiose) e β -glucosidases (que catalisam a hidrólise da celobiose e outros oligômeros à glicose) (NOVOZYMES, 2002).

O processo de hidrólise pela via enzimática é conduzido em condições brandas de processo, com pH 5,0 e temperatura por volta de 50°C, o que reduz os custos operacionais, além de conferir maior rendimento, possibilitar a fermentação simultânea à sacarificação (processo SSF – *simultaneous saccharification and fermentation*) e apresentar baixo custo de manutenção das instalações.

Por conta de seu grande potencial de evolução e menor custo, muitos especialistas indicam a hidrólise enzimática como a mais promissora para a produção de bioetanol, com um custo competitivo a longo prazo (DIPARDO, 2000; LYND et al., 2005).

Atualmente, a hidrólise com ácido diluído encontra-se num estágio mais avançado do que as demais opções, porém com baixo rendimento (50-70%) (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008).

A hidrólise com ácido concentrado apresenta rendimentos pouco maiores, mas a necessidade de recuperação do ácido e o uso de equipamentos resistentes à corrosão comprometem o desempenho econômico do processo (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008).

A hidrólise enzimática apresenta altos rendimentos (75-85%), e grandes aumentos ainda são esperados (85% - 95%). É importante observar que esses processos ainda estão em estágio inicial de desenvolvimento (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL, 2008).

A decisão de usar um ou outro processo de hidrólise depende também do tipo de material lignocelulósico empregado. Na hidrólise da hemicelulose, que ocorre em condições mais brandas que no caso da celulose, a estratégia tem sido a utilização de ácido sulfúrico diluído.

No caso da celulose, como a hidrólise química requer condições de alta severidade pela maior resistência ao processo de hidrólise, o uso da hidrólise enzimática tem sido o mais indicado.

A hidrólise em separado da hemicelulose e da celulose difere da concepção de processos mais antigos em que se busca a hidrólise química conjunta da celulose e da hemicelulose, pois como já foi dito, são polissacarídeos com diferentes suscetibilidades ao processo de hidrólise.

Fermentação alcoólica do material lignocelulósico resultante da hidrólise

A fermentação do complexo de açúcares obtido após a hidrólise da matéria-prima lignocelulósica é uma operação unitária crítica no processo de obtenção do bioetanol.

O processo de pré-tratamento da matéria-prima lignocelulósica sem o qual a hidrólise torna-se inviável, independente da mesma ser catalisada por ácidos ou enzimas, acarretará a formação de uma série de compostos secundários que inibem a atividade dos microorganismos, em geral, e da levedura, em particular. Ambos são responsáveis pelo processo de fermentação.

Os materiais lignocelulósicos, quando hidrolisados produzem hexoses oriundas da celulose que é facilmente fermentada pelos microorganismos. Já a hidrólise da hemicelulose fornece pentoses (xilose e arabinose), que não são diretamente fermentadas por leveduras industriais convencionais, sendo a bio-transformação dessas pentoses, a etanol um dos desafios mais importantes a resolver no âmbito científico e tecnológico.

A hidrólise da hemicelulose produz também hexoses tais como glicose, manose e galactose, sendo que esta última exige linhagens de levedura específicas para produção de etanol.

Em função das altas temperaturas e condições ácidas em que se desenvolvem os pré-tratamentos e a hidrólise ácida da matéria-prima lignocelulósica, se originam compostos cuja natureza e concentração depende do tipo de matéria-prima, do pré-tratamento utilizado, das condições do processo (temperatura e tempo de reação) e do emprego de catalisadores ácidos, que irão atuar como inibidores da fermentação.

Os produtos de degradação, que são potenciais inibidores da fermentação, se agrupam em três categorias (OLIVA DOMINGUEZ, 2003): derivados do furano; ácidos alifáticos de baixa massa molecular; derivados fenólicos.

Em consequência das altas temperaturas empregadas nos pré-tratamentos, os açúcares originados na hidrólise, principalmente da hemicelulose, se degradam originando os compostos derivados do furano: o furfural, formado a partir da degradação das pentoses (xilose e arabinose) e o hidroximetilfurfural (HMF), formado da degradação das hexoses (glicose, manose e galactose).

Por sua vez, esses dois compostos podem-se degradar a outros produtos. O furfural pode se degradar a ácido fórmico ou se polimerizar. O HMF origina ácidos fórmico e levulínico.

Além desses dois ácidos, forma-se ácido acético, procedente da hidrólise dos radicais acetil da hemi-celulose. Entre os efeitos negativos produzidos pelo furfural e pelo HMF sobre os microorganismos, em geral, e as leveduras da fermentação alcoólica, em particular, são: diminuição da taxa de crescimento; diminuição da produtividade de etanol; redução da síntese de biomassa (TAHEZRADEH, 1999).

Durante o pré-tratamento, uma parte da lignina também se degrada originando uma grande variedade de compostos fenólicos. Dentre esses, encontram-se ácidos, aldeídos e álcoois aromáticos.

Outro tipo de composto liberado durante o pré-tratamento é o extrativo: que são diferentes tipos de resinas (ácidos graxos, terpenóides, esteróis e ceras) e compostos fenólicos (flavonóides, taninos, etc.).

Esses compostos, embora em baixa concentração, estão presentes no “licor” e podem agir como inibidores dos microorganismos empregados na fermentação (ROSSELL, 2006).

É necessário reduzir a concentração, ou eliminar totalmente do meio de fermentação, os compostos tóxicos gerados no pré-tratamento para sejam obtidos bons rendimentos de etanol. Os métodos para isso podem ser biológicos, químicos/físicos ou uma combinação deles.

Os métodos biológicos consistem no uso de microorganismos capazes de metabolizar alguns dos compostos tóxicos presentes no substrato. Um exemplo de tratamento biológico é a destoxificação de hidrolisados utilizando micélios de *Trichoderma reesei*.

Esse microorganismo é capaz de metabolizar as pentoses e oligômeros presentes no hidrolisado sem ser afetado pelos produtos tóxicos presentes no mesmo.

Durante o tratamento com este fungo tem-se eliminado compostos como o ácido acético, o furfural e o benzóico. Também podem ser utilizadas as enzimas lacase e peroxidase procedentes de fungos ligninolíticos (MIYAFUJI et al., 2003).

Entre os métodos físicos e químicos, a extração com solventes orgânicos de ésteres de ácidos e álcoois alifáticos, que são mais voláteis que a água, pode ser utilizada para extrair ácidos alifáticos e aldeídos.

O acetato de etila, por exemplo, é eficiente na extração dos ácidos acético e fórmico e do furfural. A evaporação e a destilação são tratamentos que podem ser utilizados para eliminar compostos voláteis como o furfural, ácido acético e ácido fórmico.

Outra alternativa, é o emprego de adsorção através de carvão ativo ou carvão vegetal na destoxificação dos licores hidrolíticos (MIYAFUJI et al., 2003). Alguns autores sugerem o emprego de resinas aniônicas fortes a pH 10 para a destoxificação de hidrolisados.

Um novo método proposto consiste em utilizar a lignina que se produz como resíduo na hidrólise como adsorvente numa extração aproveitando suas propriedades hidrofóbicas.

As vantagens de utilizar a lignina residual como agente destoxificador frente às resinas cromatográficas são principalmente econômicas, reduzindo os custos do tratamento (ROSSELL, 2007).

Segundo Rossell (2007), as experiências mostram melhorias nas condições de fermentação quando os extratos foram purificados com zeólitos (grande número de minerais, tanto naturais como sintéticos, compostos de um esqueleto cristalino formado pela combinação tridimensional de tetraedros TO4 (T= Si, Al, B, Ga,) unidos entre si através de átomos de oxigênio comuns).

Os zeólitos possuem algumas propriedades tais como: forte capacidade de troca iônica; elevada superfície específica; presença de centros ativos que permitem atividade catalítica.

Por essas propriedades os zeólitos têm sido aplicados como catalisadores de reações de hidrólise de diferentes dissacarídeos como a celobiose, maltose, lactose dentre outros.

Fermentação alcoólica dos carboidratos obtidos da hidrólise

A fermentação da glicose é um processo bem estabelecido e o microorganismo mais apropriado é a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

O emprego intensivo desse microorganismo em fermentações industriais implicou num processo de seleção natural, permitindo melhores desempenhos na conversão de glicose a etanol, na produtividade e na tolerância alcoólica.

A grande dificuldade na etapa de fermentação consiste na biotransformação das pentoses. A transformação das pentoses em bioetanol é fundamental para a eficiência do processo a partir da lignocelulósica.

As linhas de pesquisa em andamento estão centradas em: seleção e melhoramento de leveduras que fermentem naturalmente as pentoses a etanol; desenvolvimento de linhagens recombinantes de *Saccharomyces cerevisiae*; seleção de bactérias termofílicas (*Thermoanaerobacter ethanolicus*); seleção de bactérias mesófilas (*Zymomonas mobilis*, *Escherichia coli* e *Klebsiella*).

Três espécies de leveduras são identificadas como as de maior potencial para a fermentação alcoólica das pentoses, são elas: *Pichia stipitis*, *Candida shehatae* e *Pachysolen tannophilus*, porém com desempenho até o momento muito limitado.

Pesquisas para a obtenção de linhagens geneticamente modificadas de *Saccharomyces cerevisiae*, para metabolizar as pentoses, foram direcionadas para as seguintes estratégias: inserção de genes de bactérias que realizam a isomerização da xilose a xilulose (xilose isomerase).

Esta última bactéria pode ser fermentada pelo *Saccharomyces*. A inserção no *Saccharomyces cerevisiae* dos genes permite a metabolização da xilose (ROSSELL, 2007).

Para realizar a fermentação alcoólica de um substrato contendo pentoses e hexoses há duas possibilidades: fermentação simultânea ou sequencial de pentoses e hexoses.

Na fermentação simultânea são utilizados dois microorganismos: um que fermenta a glicose e outro que fermenta a xilose. Estes são cultivados em cocultura.

A maioria dos trabalhos realizados neste campo utilizaram duas leveduras: *S. cerevisiae* e *P. stipitis* (pentoses). As dificuldades encontradas foram: o metabolismo da xilose, que ocorre mais lentamente que o da glicose, provocando a inibição alcoólica no microorganismo que metaboliza as pentoses; repressão catabólica da glicose sobre a utilização da xilose; competição entre o *S. cerevisiae* e a levedura responsável pela fermentação da xilose, pelo oxigênio presente no meio; possível incompatibilidade entre as duas cepas.

Outra alternativa é conduzir a fermentação num esquema sequencial, fermentando primeiro a glicose e depois as pentoses ou vice-versa. Os melhores resultados obtidos foram usando uma linhagem mutante de *Escherichia coli* incapaz de metabolizar glicose, seguida de uma segunda etapa de fermentação da glicose com *S. Cerevisiae* (OLIVA DOMÍNGUEZ, 2003).

O final da evolução da tecnologia será o estabelecimento do bioprocesso consolidado (CBP – *consolidated bioprocessing*), no qual as quatro transformações biológicas envolvidas na produção do bioetanol lignocelulósico (produção de enzimas, sacarificação, fermentação de hexoses e fermentação de pentoses) ocorrem em uma única etapa, com base no melhoramento genético de linhagens de *Saccharomyces* e *Kluyveromyces* e por meio do emprego da celulase do *Trichoderma reesei*.

Na Figura 6 são apresentadas, de forma esquemática, as rotas alternativas para obtenção de bioetanol a partir de matéria-prima constituída de bagaço ou palha de cana-de-açúcar que, de forma geral, pode ser estendida para qualquer matéria-prima lignocelulósica.

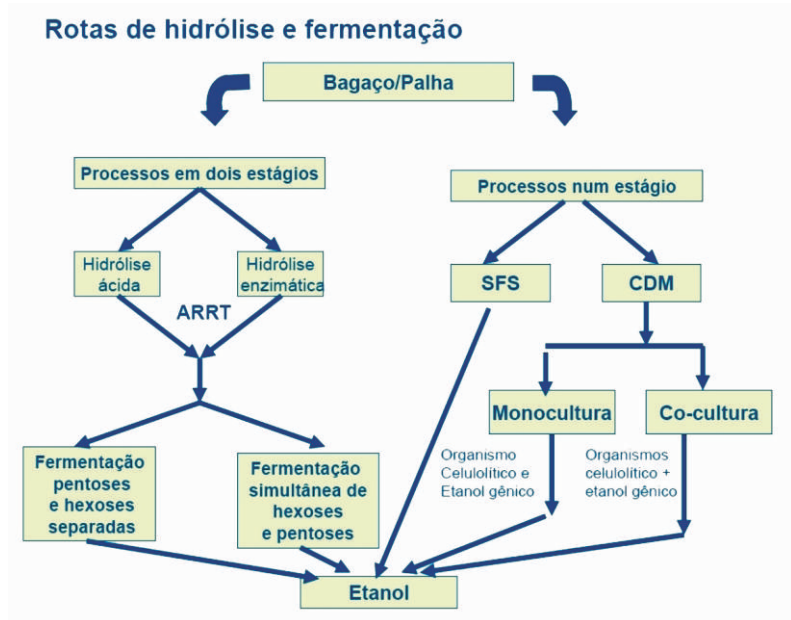


Figura 6. Rotas de hidrólise e fermentação para obtenção de bioetanol a partir de matéria-prima constituída de bagaço ou palha de cana-de-açúcar.

Fonte: Rossell (2007).

Experiências Piloto para Obtenção de Bioetanol Lignocelulósico

No Brasil, duas iniciativas são freqüentemente mencionadas: o projeto da Dedini S/A Indústrias de Base, com atuação em vários segmentos industriais como açúcar, álcool, alimentos, bebidas, biodiesel, Hidrólise Rápida (DHR) (DEDINI INDÚSTRIAS DE BASE, 2008) e, mais recentemente, a iniciativa da Oxiteno S.A, uma das empresas do Grupo Ultra (OXITENO..., 2008).

A Dedini vem testando em uma unidade piloto de capacidade para 5 mil litros diários de bioetanol, um processo para a produção de bioetanol com base no bagaço e na palha de cana, como ilustra a Figura 7.

Nesse processo, patenteado como DHR (Dedini Hidrólise Rápida), o solvente (etanol) desestrutura a matriz celulose-hemicelulose-lignina, dissolvendo a lignina, hidrolisando a hemicelulose e expondo a celulose para a ação de ácido sulfúrico diluído, que promove rapidamente (10 a 15



Figura 7. Planta-piloto da Dedini S/A Indústrias de Base para a produção de etanol com base no bagaço de cana-de-açúcar.

Fonte: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (2008).

minutos) a hidrólise dessa fração, sob temperaturas de 170 °C - 190 °C e pressões da ordem de 25 bar.

Trata-se de um processo contínuo, que vem operando desde 2003 de modo uniforme e estável. Como, nesse processo, a fração das pentoses não é aproveitada, os rendimentos são relativamente baixos, da ordem de 218 litros de bioetanol por tonelada de bagaço seco, mas, futuramente, espera-se atingir níveis próximos de 360 litros por tonelada de bagaço, na medida em que essa fração de açúcares venha a ser utilizada (OLIVÉRIO; ROSSELL, 2007).

Recentemente, a Petrobrás instalou no Cenpes, seu Centro de Pesquisas no Rio de Janeiro, um bioreator para hidrólise enzimática e, por iniciativa do Ministério de Ciência e Tecnologia, outra plataforma para hidrólise enzimática de bagaço de cana em escala-piloto está sendo implementada em Campinas (SP) junto ao recém-criado Centro de Ciência e Tecnologia do Bioetanol.

Essa plataforma dá seqüência a um projeto em escala de laboratório, envolvendo 20 Instituições de pesquisa no Brasil com parcerias no exterior e uma centena de pesquisadores de universidades e centros de pesquisa brasileiros.

A Logen, empresa canadense de biotecnologia, possui uma unidade de demonstração que utiliza apenas 30 toneladas de biomassa e tem capacidade de produção de 1 milhão de galões/ano.

Uma planta economicamente viável deveria consumir 1.500 toneladas de biomassa/dia e ter capacidade de produção em torno de 45 milhões de galões/ano.

O processo compreende tratamento prévio do material lignocelulósico através de explosão com vapor, e a hidrólise enzimática utilizando uma enzima desenvolvida com base na modificação genética de um fungo tropical, o *Trichoderma reesei*.

As apostas norte-americana e europeia no etanol lignocelulósico têm recaído no desenvolvimento dos processos de hidrólise enzimática, enquanto no Brasil o interesse das empresas parece mais voltado para a hidrólise ácida – ainda que muita pesquisa acadêmica seja realizada nas duas áreas.

Referências

BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL. *Bioetanol de cana-de-açúcar*: energia para o desenvolvimento sustentável. Rio de Janeiro, 2008. 316 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Plano Nacional de Agroenergia*: 2006-2011. Brasília, DF, 2005. 120 p.

DEDINI INDÚSTRIAS DE BASE. *DHR Dedini Hidrólise Rápida*. Disponível em: <<http://www.dedini.com.br/pt/dhr.html>>. Acesso em: ago. 2008.

DIPARDO, J. *Outlook for biomass ethanol production and demand*. Washington, D. C.: U. S. Department of Energy - Energy Information Administration, 2000. 12 p.

GOLDEMBERG, J.; COELHO, S. T.; GUARDABASSI, P. The sustainability of ethanol production from sugarcane. *Energy Policy*, v. 36, n. 6, p. 2086-2097, June 2008.

GOLDEMBERG, J.; MACEDO, I. C. Brazilian alcohol program: an overview. *Energy for Sustainable Development*, v. 1, n. 1, p. 17-22, May, 1994.

GRAF, A.; KOEHLER, T. *Oregon cellulose-ethanol study: an evaluation of the potential for ethanol production in Oregon using cellulose-based feedstocks*. Salem: Oregon Office of Energy, 2000.

GRAY, K. A.; ZHAO, L.; EMPTAGE, M. Bioethanol. *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 10, n. 2, p. 141-146, Apr. 2006.

KLOCK, U. *Química da madeira: celulose*. 2008. Disponível em: <www.madeira.ufpr.br/disciplinasklock/quimicadamadeira/celulose.ppt>. Acesso em: 15 out. 2009.

LYND, L. R.; LASER, M.; JIN, H.; JAYAWARDHANA, K.; LARSON, E. D.; CELIK, F.; DALE, B. E. Tomorrow's biomass refineries. In: SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY FOR FUELS AND CHEMICALS, 27., 2005, Denver. Disponível em: <http://www1.eere.energy.gov/biomass/biotech_symposium/session2.html>. Acesso em: out. 2009.

MACEDO, I. C. *Biomass as a source of energy*. [S. l.]: The InterAcademy Council, 2005. 26 p. (Report prepared for the InterAcademy Council study on "Transitions to Sustainable Energy Systems". Disponível em: <<http://www.interacademycouncil.net/Object.File/Master/10/326/Biomass.pdf>>. Acesso em: out. 2009.

MARTINS, L. F. *Caracterização do complexo celulásico de Penicillium echinulatum*. 2005. 139 f. Tese (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

MIYAFUJI, H.; DANNER, H.; NEUREITER, M.; THORNASSER, C.; BVOCHORA, J.; SZOLAR, O.; BRAUN, R. Detoxification of wood hydrolysates with wood charcoal for increasing the fermentability of hydrolysates. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 32, n. 3-4, p. 396-400, 2003.

NOVOZYMES. *Fuel ethanol production: technological and environmental improvements*. [S. l.]: Novozymes & BBI International, 2002.

OLIVA DOMINGUEZ, J. M. *Efecto de los productos de degradación originados en la explosión por vapor de biomasa de chopo sobre Kluyveromyces marxianus*. 2003. 166 f. Tesis (Doutorado) – Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense, Madrid, 2003.

OLIVÉRIO, J. L.; SOARES, P. A. *Produção de álcool a partir do bagaço: o processo DHR – Dedini Hidrólise Rápida*. Piracicaba: Dedini S/A Indústrias de Base, 2007. Disponível em: <<http://www.iea.usp.br/iea/online/midiateca/etanolcelulosicosoares.pdf>>. Acesso em: out. 2009.

OXITENO apresenta projeto ao BNDES para construir biorrefinaria; quer obter etanol a baixo custo para fabricar produtos químicos. *Inovação Unicamp – Boletim dedicado à inovação tecnológica*, São Paulo, dez. 2008. Disponível em: <<http://www.inovacao.unicamp.br/report/news-oxiteno060807.shtml>>. Acesso em: out. 2009.

REDDY, B. V. S. *ICRISAT develops sweet sorghum for ethanol production*. 2004. Disponível em: <<http://www.icrisat.org/media/2004/media13.htm>>. Acesso em: maio 2008.

RENEWABLE FUELS ASSOCIATION. *Annual Industry Outlook 2008: changing the climate*. Washington, D. C., 2008. 28 p. Disponível em: <http://www.ethanolrfa.org/objects/pdf/outlook/RFA_Outlook_2008.pdf>. Acesso em: jun. 2009.

RODRÍGUEZ, A. G. *Biocombustibles y seguridad alimentaria: análisis exploratorio*. In: BIOCMBUSTIBLES COMO ENERGÍA ALTERNATIVA: UNA MIRADA HACIA LA REGIÓN. 2007, Quito. Disponível em: <<http://www.ceda.org.ec/descargas/ForoBio/MESA%20REDONDA/Adrian%20Rodriguez.pdf>>. Acesso em: out. 2009.

ROSSELL, C. E. V. Conversion of lignocellulose biomass (bagasse and straw) from the sugar-alcohol industry into bioethanol. In: FRANCO, T. (Org.). *Industrial perspectives for bioethanol*. Campinas: Uniemp Inovação, 2006. Cap. 8, p.123-142.

ROSSELL, C. E. V. *Hidrólise de bagaço e palha de cana para produção de etanol: fermentação alcoólica do licor resultante da hidrólise*. In: WORKSHOP TECNOLÓGICO SOBRE HIDRÓLISE PARA PRODUÇÃO DE ETANOL, 2007, São Paulo. Disponível em: <<http://www.inovacao.unicamp.br/etanol/report/Hidrolise%20Rossell%20Apresenta%E7%E3o.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2009.

STEFANO, F. A nova fronteira do etanol. *Portal Exame*, 20 set. 2008. Disponível em: <http://portalexame.abril.com.br/degustacao/secure/degustacao.do?COD_SITE=35&COD_R_ECURSO=211&URL_RETORNO=http://portalexame.abril.com.br/revista/exame/edicoes/092/0/agro_2008/m0164592.html>. Acesso em: out. 2009.

TAHEZADEH, M. J. *Ethanol from lignocellulose: physiological effects of inhibitors and fermentation strategies*. Goteborg; Department of Chemical Reaction Engineering, Chalmers University of Technology, 1999. Disponível em: <<http://publications.lib.chalmers.se/cpl/record/index.xsql?pubid=1247>>. Acesso em: out. 2009.



Informática Agropecuária

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

