*UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO*
*ESCOLA DE QUÍMICA*
*PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS*

# PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS A PARTIR DA BIOMASSA DE DENDÊ (*Elaeis guinaeensis*)

***Leonard Guimarães Carvalho***

Orientadores:

Donato Alexandre Gomes Aranda, *PhD*

Nei Pereira Jr., *PhD*

Rio de Janeiro – RJ, Brasil

Outubro de 2009

**PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS A PARTIR DA BIOMASSA DE DENDÊ (*Elaeis guinaeensis*).**

**Leonard Guimarães Carvalho**

Dissertação submetida ao corpo docente do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de mestre em ciências (M.Sc.).

Aprovada por:

Profº. Donato Alexandre Gomes Aranda, *PhD*
Orientador-Presidente

Profº. Nei Pereira Jr. *PhD*
Orientador

Profª. Luciana Camacho Rodrigues, *DSc*

Profª. Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto, *DSc*

Profª. Neyda de la Caridad Om Tapanes, *DSc*

Rio de Janeiro - RJ – Brasil.
Outubro de 2009

## FICHA CATALOGRÁFICA

Carvalho, Leonard Guimarães.

Produção de biocombustíveis a partir da biomassa de dendê (*Elaeis guinaeensis*). / Leonard Guimarães Carvalho – Rio de Janeiro, 2009.

xiii, 83 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Escola de Química – EQ, 2009.

Orientadores: Donato Alexandre Gomes Aranda., Ph.D.

Nei Pereira Jr., Ph.D.

1. Produção de biodiesel.
.....2. Resíduos Lignocelulósicos de Dendê
.....3. Etanol.

I. Aranda, Donato Alexandre Gomes (Orient.).
II. Pereira, Nei Jr. (Orient.).
II. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Escola de Química.
III. Produção de biocombustíveis a partir da biomassa de dendê.

*À Deus, pois sem Ele, nada seria possível e não estaríamos aqui reunidos, desfrutando, juntos, destes momentos que nos são tão importantes.*

*A minha mãe Luzia; pelo esforço, dedicação e compreensão, em todos os momentos desta e de outras caminhadas.*

# AGRADECIMENTOS

Ao professor Donato, pela receptividade, pelos ensinamentos, pela paciência, preocupação e compreensão em momentos difíceis. Essas suas capacidades demonstram a sua grandeza como pessoa e como professor;

Ao professor Nei por sua receptividade, paciência, orientação no desenvolvimento desta dissertação, pela contribuição científica e profissional, pois sei que estas serão as precursoras da minha carreira;

Aos meus pais, por sempre terem educado a lutar pelos meus objetivos e por lhes dever tudo o que hoje sou, como pessoa e como profissional;

Ao meu irmão, minhas primas Beatriz e Alessandra e meu primo Vinícius, são minha família e apoio, com quem supero os problemas e partilho as alegrias;

A minha namorada pelo apoio, torcida, incentivo e ajuda durante toda essa caminhada;

A minha família, por confiar em mim e me apoiar em todas as minhas aventuras;

A minha grande amiga Luciana pelo apoio, ajuda e ensinamento no meio científico.

A amiga Gisel, que com pouco tempo que nos conhecemos veio a se tornar minha "mamadi";

Às meus amigos do Greentec, especialmente a todos: Alex, Alexandre, Carla, Chaline, Cristiane, Cristiano, Hugo, Isabelle, Jussara, Luana, Marcela, Michelle, Natália, Nelder, Paulinha, Reinaldo, Renata, Sidney, Tiago. Nelder, pelo carinho, e pelos momentos de descontração;

Aos amigos que fiz do Laboratório de Bioprocessos que me receberam com muito carinho e atenção: Gabriel, Daiana, Luizão, Mariana, Carol, Ludmila, Jorge, Neumara, Paulo, Eleandro, Eloisa, Edelvio; e todos os outros, pelo agradável convívio no laboratório e durante o curso;

A Andréia, minha aluna de iniciação científica, pela disponibilidade em me ajudar na realização deste trabalho, com muita competência.

A Petrobrás pelo auxílio financeiro.

A todas as pessoas que de alguma forma me ajudaram nesta fase tão importante de minha vida.

# RESUMO

CARVALHO, Leonard Guimarães. Produção de biocombustíveis a partir da biomassa de dendê. Orientadores: Donato Alexandre Gomes Aranda e Nei Pereira Jr.. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ; 2009. Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos.

O Brasil possui o maior potencial mundial para a produção do óleo de dendê dado aos quase 75 milhões de hectares de terras aptas à dendeicultura e tem capacidade para produzir combustíveis alternativos a partir de diversas espécies oleaginosas, favorecido pelas características edafoclimáticas. A produtividade de óleo por hectare da palma é cerca de dez vezes a produtividade de óleo de soja (5.000 L/ha contra 500 L/ha, respectivamente). Durante a extração do óleo bruto gera-se uma grande quantidade de biomassa (fibras dos frutos, cachos, palha, folhas) e, posteriormente, na etapa de refino, obtém-se como subproduto ácidos graxos (borra ácida) de baixo valor agregado, podendo gerar biodiesel de baixo custo de produção. Um grande desafio desse cenário é promover valorização desses resíduos, tornando a indústria do biodiesel mais competitiva. Uma estratégia possível é a esterificação da borra ácida utilizando etanol produzido a partir da fibra lignocelulósica, existente na biomassa residual, através de processos hidrolíticos e fermentativos. No presente trabalho foram estudados diferentes catalisadores ácidos homogêneos na reação de esterificação de ácidos graxos de palma para a produção de biodiesel. As reações ocorreram em meio anidro ou hidratado, utilizando etanol ou metanol. A influência do teor de catalisador no rendimento também foi investigada. Foram realizados estudos cinéticos na presença e ausência dos catalisadores homogêneos. O processo foi conduzido a 130°C, em reator PARR, com razão molar álcool/ácido graxo igual a 3,0. Os resultados obtidos mostraram melhores conversões com o ácido sulfúrico (86,6%) e com o ácido metanosulfônico (85,2%) como catalisadores homogêneos da esterificação etílica. O estudo para a obtenção de etanol foi feito utilizando as duas frações do material lignocelulósico, hemicelulose e celulose. Pré-tratamento ácido foi utilizado para extração dos açúcares constituintes da fração hemicelulósica realizando ensaios em um reator PARR, os quais resultaram em concentrações de xilose reduzidas. Quando utilizadas condições mais brandas no pré-tratamento, mediante o uso da autoclave, foi possível alcançar uma concentração de xilose de 18,8 g/L. A fermentação do hidrolisado, pela ação da levedura *Pichia stipitis*, atingiu uma concentração de etanol de 7,45 g/L após 18 horas de processo. A partir da fração celulósica, foi produzido etanol pelo processo de hidrólise enzimática simultâneas à fermentação, o qual consiste de uma pré-hidrólise durante 12 horas para hidrólise da celulose em glicose seguida de fermentação por um tempo de 48 horas. Neste processo, a concentração final de etanol foi de 18,30 g/L. Sabendo-se que para extrair 1 tonelada de óleo bruto de dendê são geradas 2,4 toneladas de bagaço e que, durante o refino do óleo bruto, são produzidas 70 Kg de borra ácida, dois possíveis cenários podem ser apresentados. Considerando que esterificação etílica dessa quantidade de borra requer 38,8 Kg de etanol e que a partir das 2,4 toneladas de bagaço pode se produzir, de acordo com os resultados do presente trabalho, 182,5 Kg de etanol, em um dos cenários ter-se-ia um excedente de etanol de 143 Kg. Outro cenário pode ser vislumbrado, no qual se produz só o etanol necessário para a esterificação e o bagaço excedente (1890 Kg) seria destinado para a geração de energia, a ser utilizada na própria destilação do etanol.

# ABSTRACT

CARVALHO, Leonard Guimarães. Production of biofuels from palm biomass. Supervisors: Donato Alexandre Gomes Aranda e Nei Pereira Jr. Rio de Janeiro:UFRJ/EQ; 2009. Master Degree of Science in Technology of Chemical and Biochemical Processes.

Brazil has the greatest potential for world production of palm oil considering roughly 75 million hectares of land suitable for the cultivation of *Elaeis guinaeensis* (Palm culture) and has the capacity to produce alternative biofuels from various oil seed species favored by soil and climatic characteristics. The oil yield per hectare of palm is about ten times the productivity of soybean oil (5,000 L/ha and 500 L/ha, respectively). The extraction of crude oil generates a large amount of biomass (grains from the fruits, bunch of fruits, straw, leaves) and then in the stage of refining it is obtained as by-product fatty acids (acid sludge) of low value-added that can generate low-cost biodiesel production. A major challenge of this scenario is to promote recovery of waste, making the biodiesel industry more competitive. A possible strategy is the esterification of the acid sludge using ethanol produced from lignocellulosic fibers, existing in the residual biomass, by hydrolytic and fermentative processes. In the present study, it was evaluated different homogeneous acid catalysts in the reaction of esterification of palm fatty acids for biodiesel production. The reactions were performed using anhydrous or hydrated using ethanol or methanol. The influence of the content of catalyst on yield was also investigated. Kinetic studies were performed in the presence and absence of homogeneous catalysts. The process was carried out at 130 °C in a PARR reactor with a molar ratio alcohol/fatty acid equal to 3.0. The results showed the best conversion with sulfuric acid (86,6%) and methanesulfonic acid (85,2%) as catalysts for homogeneous ethylic esterification. The study for the production of ethanol was done using the two fractions of the lignocellulosic complex, hemicellulose and cellulose. Acid pre-treatment was used for the extraction of the hemicellulose-derived sugars, mainly xylose, performed in a PARR reactor, which resulted in low concentration of xylose. When mild conditions were applied in the pre-treatment through the use of an autoclave, it was possible to achieve a concentration of xylose of 18.78 g / L. The fermentation of the hydrolysate by the yeast *Pichia stipitis* has reached an ethanol concentration of 7.45 g/L after 18 hours of process. From the cellulosic fraction, ethanol was also produced by the simultaneous saccharification and fermentation process, which consists of a pre-enzymatic hydrolysis for 12 hours for the conversion of cellulose into glucose, followed by fermentation for a period of time of 48 hours. In this process the final concentration of ethanol was 18.30 g/L. Considering that the extraction of 1 ton of crude palm oil generates 2.4 tons of bagasse, and that during the refining of this oil, 70Kg of an fatty acid containing sludge are also generated, two possible scenarios were presented. According to the results of the present work, the ethylic esterification of this amount of sludge requires 38.8 Kg of ethanol and given that 2.4 tons of bagasse can produce 182.4 Kg of ethanol, in one of the sceneries an ethanol surplus of 143 Kg would be available. Another scenery was also visualized, in which only the ethanol necessary for the esterification would be produced and the bagasse surplus (1890 Kg) would be available for energy generation to be used in the own ethanol distillation.

# SUMÁRIO

**CAPÍTULO 1**

INTRODUÇÃO ..... 1

**CAPÍTULO 2**

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ..... 4

2.1 PROCESSOS DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL ..... 8
2.2 NATUREZA DA MATÉRIA-PRIMA ..... 11
2.3 DENDÊ ..... 12
***2.3.1 Processamento dos Frutos De Palma ..... 13***
2.4 BAGAÇO DE DENDÊ COMO MATERIAL LIGNOCELULÓSICO ..... 16
***2.4.1 Hemicelulose ..... 19***
***2.4.2 Celulose ..... 20***
***2.4.3 Lignina ..... 22***
2.5 PROCESSOS PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL ..... 23
***2.5.1 Sacarificação e Fermentação Simultâneas (SSF) ..... 25***
***2.5.2 Sacarificação com Co-fermentação Simultânea (SSCF) ..... 26***
***2.5.3 Bioprocesso Consolidado (CBP) ..... 27***
2.6 PRÉ-TRATAMENTOS PARA MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS ..... 27
***2.6.1 Pré-tratamento Ácido ..... 29***
***2.6.2 Inibidores do Processo de Fermentação ..... 30***
2.7 APROVEITAMENTO DE CELULOSE ..... 31
2.8 FERMENTAÇÃO DE HIDROLISADOS HEMICELULÓSICOS ..... 34
2.9 FERMENTAÇÃO DO HIDROLISADO CELULÓSICO ..... 36
2.10 BIOCOMBUSTÍVEIS NO CONTEXTO DA BIORREFINARIA ..... 38
2.11 A IMPORTÂNCIA DA ROTA ETÍLICA ..... 43
2.12 CONSIDERAÇÕES GERAIS ..... 44

**CAPÍTULO 3**

OBJETIVOS ..... 46

3.1 GERAL ..... 46
3.2 ESPECÍFICOS ..... 46

**CAPÍTULO 4**

MATERIAIS E MÉTODOS ..... 47

4.1 PROCEDÊNCIA DA BORRA ÁCIDA ..... 47
4.2 PRODUÇÃO DE BIODIESEL ..... 48
***4.2.1 Esterificação Homogênea ..... 48***
4.3 PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DO RESÍDUO LIGNOCELULÓSICO ..... 50
***4.3.1 Pré-tratamento ácido para extração de hemicelulose ..... 50***
***4.3.2 Processos de Deslignificação e Pré-Hidrolise Enzimática de Celulignina ..... 52***
***4.3.3 Microrganismos ..... 52***
***4.3.4 Meios Empregados para Ativação, Propagação e Fermentação ..... 53***
***4.3.5 Metodologia de Propagação Celular ..... 54***
***4.3.6 Fermentação em Biorreator Instrumentado ..... 57***
***4.3.7 Processo SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation) ..... 57***
4.4 METODOLOGIA ANALÍTICA ..... 58
***4.4.1 Determinação de Biomassa ..... 59***
***4.4.2 Quantificação dos Açúcares ..... 59***

**CAPÍTULO 5**

RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 61

5.1 PRODUÇÃO DE BIODIESEL POR ESTERIFICAÇÃO HOMOGÊNEA ..... 61
5.2 PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DO BAGAÇO DE DENDÊ ..... 65
***5.2.1 Aproveitamento da Fração Hemicelulósica ..... 65***
5.3 APROVEITAMENTO DA FRAÇÃO CELULÓSICA ..... 68
***5.3.1 Pré-Tratamento Alcalino ..... 69***
***5.3.2 Processo SSF ..... 70***
5.4 BALANÇOS MÁSSICOS PARA O PROCESSO INTEGRADO DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL ..... 70

**CAPÍTULO 6**

CONCLUSÕES ..... 73

SUGESTÕES ..... 74

**CAPÍTULO 7**

REFERÊNCIAS ..... 75

# ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 2.1: DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DOS PROCESSOS DE CONVERSÃO ENERGÉTICA DA BIOMASSA ..... 7

FIGURA 2.2: REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO ..... 8

FIGURA 2.3: FÁBRICA DA AGROPALMA, LOCALIZADA EM BELÉM-PA ..... 9

FIGURA 2.4: CONVERSÃO OBTIDA PARA A ESTERIFICAÇÃO DE ÁCIDO PALMÍTICO COM CATALISADORES $WO_3/ZrO_2$ . ..... 9

FIGURA 2.5: FLUXOGRAMA PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL ..... 10

FIGURA 2.6: REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO ..... 11

FIGURA 2.7: O DENDEZEIRO (*ELAEIS GUINAEENSIS*) ..... 13

FIGURA 2.8: FLUXOGRAMA DO PROCESSAMENTO DE ÓLEO DE PALMA. ..... 15

FIGURA 2.9: PRODUÇÃO DE BIODIESEL MENSAL. ..... 16

FIGURA 2.10: ESQUEMA ESTRUTURAL SIMPLIFICADO DAS FIBRAS DO MATERIAL LIGNOCELULÓSICO ..... 18

FIGURA 2.11: ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS MONÔMEROS CONSTITUTIVOS DA HEMICELULOSE. ..... 20

FIGURA 2.12: DISPOSIÇÃO DAS MOLÉCULAS DE GLICOSE, UNIDAS POR LIGAÇÕES GLICOSÍDICAS(A); ESTRUTURA SIMPLIFICADA DA CELULOSE (B) ..... 21

FIGURA 2.13: ALCOÓIS PRECURSORES DA LIGNINA ..... 23

FIGURA 2.14: DIAGRAMA DE BLOCOS DO PROCESSO COM HIDRÓLISE ÁCIDA TOTAL ..... 24

FIGURA 2.15: DIAGRAMA DE BLOCOS DO PROCESSO SHF COM HIDROLISE SELETIVA DE HEMICELULOSE. ..... 25

FIGURA 2.16: DIAGRAMA DE BLOCOS DO PROCESSO SSF ..... 26

FIGURA 2.17: DIAGRAMA DE BLOCOS DO PROCESSO SSCF ..... 26

FIGURA 2.18: DIAGRAMA DE BLOCOS DO PROCESSO CBP-1 ..... 27

FIGURA 2.19: DIAGRAMA DE BLOCOS DO PROCESSO CBP-2 ..... 27

FIGURA 2.20: REAÇÃO GLOBAL DE CONVERSÃO DE D-XILOSE A ETANOL ..... 34

FIGURA 2.21: METABOLISMO DE D-XILOSE EM LEVEDURAS ..... 35

FIGURA 2.22: VIA GLICOLÍTICA, BIOSSÍNTESE DE GLICEROL E CONVERSÃO DO PIRUVATO A ETANOL. ..... 37

FIGURA 2.23: PRODUTOS, SUBPRODUTOS E RESÍDUOS OBTIDOS DURANTE O PROCESSAMENTO DE ÓLEO DE PALMA ..... 42

FIGURA 4.1: ESQUEMA DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE PALMA. FFB: CACHOS DE FRUTAS FRESCAS, EFB: CACHOS DAS FRUTAS VAZIO, PPF: FIBRA PRENSADA DE PALMA, PKS: CASCA DA AMÊNDOA DA PALMA, PKC: TORTA DA AMÊNDOA DA PALMA, PKO: ÓLEO DA AMÊNDOA DE DENDÊ ..... 48

FIGURA 4.2: REATOR PARR MODELO 4842 UTILIZADO PARA A REALIZAÇÃO DAS REAÇÕES DE TRATAMENTO TÉRMICO ÁCIDO E REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO. ..... 51

FIGURA 4.3: ESQUEMA REPRESENTATIVO DAS ETAPAS UTILIZADAS PARA PROPAGAÇÃO CELULAR. (A) CRESCIMENTO NUMA ETAPA EM MEIO SINTÉTICO; (B) CRESCIMENTO EM UMA ETAPA EM MEIO CONTENDO 25% DE HIDROLISADO E, (C) CRESCIMENTO EM DUAS ETAPAS EM MEIOS CONTENDO 25% E 50% DE HIDROLISADO. ..... 56

FIGURA 4.4: BIORREATOR BIOFLO & CELLIGEN 310 PARA FERMENTAÇÃO DE HIDROLISADO ..... 57

FIGURA 4.5: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO TRATAMENTO DAS AMOSTRAS ..... 58

FIGURA 4.6: CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DE BIOMASSA. ..... 59

FIGURA 5.1: CURVAS CINÉTICAS DOS ENSAIOS COM ETANOL ANIDRO. ..... 61

FIGURA 5.2: CURVAS CINÉTICAS DOS ENSAIOS COM METANOL ANIDRO. .....62

FIGURA 5.3: CURVAS CINÉTICAS DOS ENSAIOS NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DO ÁCIDO METANOSULFÔNICO, EM ETANOL HIDRATADO (4% DE ÁGUA) E METANOL HIDRATADO (4% DE ÁGUA). .....64

FIGURA 5.4: REAÇÕES DE EQUILÍBRIO ÁCIDO-BÁSICO DAS ESPÉCIES ENVOLVIDAS NA FORMAÇÃO DE BIODIESEL. .....64

FIGURA 5.5: GRÁFICO DE CONVERSÃO VERSUS TEMPO PARA REAÇÕES COM DIFERENTES TEORES DE ÁCIDO METANOSULFÔNICO NA ESTERIFICAÇÃO ETÍLICA DE ÁCIDOS GRAXOS DE PALMA. .....65

FIGURA 5.6: CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO DO HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DE BAGAÇO DE DENDÊ EM BIORREATOR COM CÉLULAS ACLIMATADAS .....67

FIGURA 5.7: CROMATOGRAMA DA FERMENTAÇÃO DO HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DE BAGAÇO DE DENDÊ EM BIORREATOR COM CÉLULAS ACLIMATADAS. .....68

FIGURA 5.8: CURVA CINÉTICA PARA OBTENÇÃO DE ETANOL EM PROCESSO SSF. .....70

FIGURA 5.9: FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE INTEGRAÇÃO ENTRE A PRODUÇÃO DE RESÍDUOS DA INDÚSTRIA DE DENDÊ E A PRODUÇÃO DE ETANOL. .....71

FIGURA 5.10: FLUXOGRAMA PARA DESTILAÇÃO DO ETANOL APROVEITANDO O EXCEDENTE DO RESÍDUO DA INDÚSTRIA DE DENDÊ.....72

# ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 2 1: COMPOSIÇÃO TÍPICA (%) DOS PRINCIPAIS TRIGLICERÍDEOS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE BIODIESEL. O NÚMERO XX-Y REPRESENTA O NÚMERO DE ÁTOMOS DE CARBONO DA CADEIA (XX) JUNTAMENTE COM O NÚMERO DE DUPLAS LIGAÇÕES (Y). ....11

TABELA 2.2: COMPOSIÇÃO MÉDIA DE DOIS RESÍDUOS SÓLIDOS ((EFB E PPF) OBTIDOS DURANTE A EXTRAÇÃO ÓLEO DE PALMA .....18

TABELA 2.3: DIFERENÇAS ENTRE HEMICELULOSE E CELULOSE .....22

TABELA 4.1: CONDIÇÕES ESTUDADAS PARA A HIDRÓLISE ÁCIDA DO BAGAÇO. .....51

TABELA 4.2: PROCESSOS DE DESLIGNIFICAÇÃO APLICADOS SOBRE A CELULIGNINA .....52

TABELA 4.3: COMPOSIÇÃO DO MEIO UTILIZADO PARA ATIVAÇÃO CELULAR. .....53

TABELA 4.4: COMPOSIÇÃO DA SOLUÇÃO DE SAIS MINERAIS E ÁCIDO CÍTRICO. .....53

TABELA 4.5: COMPOSIÇÃO DO MEIO SINTÉTICO PARA FERMENTAÇÃO. .....54

TABELA 5.1: COMPARAÇÃO ENTRE O TEMPO DE CONVERSÃO NOS EXPERIMENTOS COM ETANOL ..... 62

TABELA 5.2: COMPARAÇÃO ENTRE O TEMPO DE CONVERSÃO NOS EXPERIMENTOS COM METANOL .....63

TABELA 5.3: PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL, COM RESULTADOS, UTILIZADOS PARA A OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE ÁCIDA. .....66

# CAPÍTULO 1

# INTRODUÇÃO

A partir da segunda metade do século XVIII, com a revolução industrial inglesa, a demanda por combustíveis aumentou, continuamente, de maneira vertiginosa. O primeiro combustível largamente utilizado foi o carvão mineral, abundante na Inglaterra e Europa continental. No final do século XIX, a produção de carvão torna-se insuficiente para atender o setor industrial, necessitava-se, então, de outro combustível, de poder energético semelhante, mais facilmente transportável e armazenado e, também, mais abundante, permitindo sua utilização em larga escala pelos setores industriais, por longo espaço de tempo. Este novo combustível era o petróleo.

A transformação conduzida pela introdução do petróleo foi significativa, praticamente deslocando todos os demais combustíveis para um plano secundário, e tornando-se, desde então, a principal fonte energética do planeta, e lançando as bases para uma nova revolução industrial, que tem como seu expoente máximo, a indústria automobilística.

O uso indiscriminado de hidrocarbonetos para o desenvolvimento industrial, além de ocasionar uma diminuição das reservas de petróleo e um aumento excessivo dos preços de seus derivados, tem gerado altos índices de contaminação ambiental. Estes fatores têm motivado a humanidade a procurar novas alternativas energéticas e industriais nas quais diferentes derivados de petróleo sejam substituídos, possibilitando, conseqüentemente, uma redução nos danos ocasionados ao meio ambiente. Uma razão que torna o petróleo difícil de ser substituído é que, sem sombra de dúvida, é a principal fonte de energia no mundo, fornecendo mais de 36% das necessidades energéticas; sendo, também vital como matéria-prima da indústria petroquímica (MAST, 2005).

Em princípio, outros combustíveis fósseis, como o gás natural e o carvão mineral, têm reservas significativas para substituir o petróleo. Porém, estas fontes são de difícil transformação em matéria-prima para a indústria química e não iriam resolver o outro grande problema relacionado ao petróleo: o impacto ambiental devido à formação de $CO_2$, CO e gases sulfurados e nitrogenados oriundos da sua queima ou transformação. Entre estes combustíveis, o gás natural seria a fonte mais promissora, com maior capacidade de expansão e mais "limpa", mas apresenta uma distribuição espacial não homogênea, demandando grandes investimentos em infra-estrutura e acordos internacionais complexos (SCHUCHARDT & RIBEIRO, 2001; MAPA, 2005).

Diante dessa problemática tem se apresentado um crescente interesse por fontes alternativas de energia, destacando-se os empreendimentos realizados pelo Brasil e Estados Unidos no desenvolvimento de projetos para a produção de biocombustíveis, como o etanol e biodiesel com base, respectivamente, em resíduos agroindustriais oriundos da cana-de-açúcar, milho e dendê. Atrelados a esse interesse pelos biocombustíveis encontram-se: a indústria automobilística, com vendas crescentes de veículos movidos a álcool e os do tipo flexíveis (utilizam qualquer mistura etanol:gasolina); os governos, com diversas regulamentações que aumentam o teor de etanol em gasolina; e a indústria de biotecnologia, com enzimas e microrganismos cada vez mais eficientes. A sinergia criada entre esses setores vem aumentando acentuadamente as demandas de produção, consumo e pesquisa/desenvolvimento na área de biocombustível.

O biodiesel e o etanol, por sua vez, não possuem enxofre nem nitrogênio. Assim, a combustão destes compostos não geram estes gases poluentes. Além disso, é produzido a partir de fontes biológicas renováveis. As oleaginosas podem ser indefinidamente cultivadas.

O bagaço de dendê, subproduto da extração do óleo de dendê apresenta-se, então, como um dos materiais lignocelulósicos com potencial para produção de etanol e outros produtos de interesse, dentro do conceito denominado de "biomass refinery" ou "biorrefinaria". Este conceito baseia-se na separação seletiva das frações do material lignocelulósico de acordo com suas características químicas e/ou produtos a serem obtidos. Direcionadas por esse conceito, se pode afirmar que a hemicelulose e a celulose, principais frações estruturais do bagaço de dendê, representam uma fonte

potencial de xilose e glicose, respectivamente. Porém, a obtenção desses açúcares requer a aplicação de técnicas que permitam a sua extração seletiva.

A técnica de planejamento experimental pode ser amplamente utilizada em conjunto com os processos de produção, levando à possibilidade de geração de modelos empíricos simples através da realização de poucos ensaios. Além disto, permite a identificação das variáveis mais importantes no processo, para uma posterior otimização.

Neste contexto, a presente dissertação visa à obtenção de etanol a partir do bagaço provenientes da indústria de dendê que pode ser inserido no processo de esterificação ou transesterificação etílica para produção de biodiesel.

# CAPÍTULO 2

# REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Segundo relatório anunciado, em fevereiro de 2007, pelo Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, na sigla em inglês) a temperatura média do planeta subirá de 1,8 a 4 graus até 2100, provocando um aumento do nível dos oceanos de 18 a 59 cm, inundações e ondas de calor mais freqüentes, além de ciclones mais violentos. De acordo com os especialistas deste órgão, o aquecimento do planeta se deve, com 90% de probabilidade, às emissões de dióxido de carbono provocadas, principalmente por combustíveis fósseis (derivados de petróleo). Entretanto, séries históricas de consumo de petróleo revelam que as reservas de petróleo, comercialmente exploráveis, crescem a taxas menores que o consumo. Admitindo que os indicadores de médio e, até de longo prazo, não demonstram um esgotamento do sistema de produção, surge a necessidade da busca por alternativas energéticas, sob pena do sistema se esgotar sem que haja um substituto natural e principalmente sob a possibilidade da ocorrência de muitas transformações ambientais catastróficas, que virão prejudicar principalmente a vida do homem.

O surgimento de constantes crises que se iniciaram nos anos 70, no mercado internacional de petróleo, ocasionado pelo aumento dos preços de seus derivados, pela instabilidade política, econômica e ambiental das regiões produtoras de petróleo, tem desencadeado no campo científico, uma preocupação maior sobre o que produzir e como produzir, questões estas que fazem parte da necessidade em se garantir a energia necessária sem comprometer aspectos ambientais e ao mesmo tempo conseguir suprir as necessidades básicas do ser humano, onde além do desenvolvimento econômico se começa agora a explorar o uso de tecnologias limpas que tragam um amplo desenvolvimento sustentável.

Estes esforços se iniciaram em Augsburg na Alemanha, a partir da percepção que Rudolf Diesel criou, em 1895, um motor para que fossem utilizados, como combustíveis, óleos vegetais. Segundo ele, a utilização de óleos vegetais contribuiria muito para o desenvolvimento agrícola dos países que utilizassem este motor. Após sua morte, foi criado um óleo grosso, mais barato que os combustíveis existentes à época chamado, em sua homenagem, de óleo diesel. Desta época até a década de 70, o petróleo e seus derivados eram abundantes e de baixo custo, diminuindo o interesse pela utilização de óleos vegetais.

Entretanto, na década de 70, houve duas crises (a primeira em 1973 e a segunda em 1979), levando a um grande aumento dos preços do petróleo, aumentando o interesse por óleos vegetais. Este interesse voltou a cair na década de 80, devido à nova queda do preço do petróleo.

No início da década de 90, começaram a surgir preocupações de ordem ambiental, com a elevação contínua de emissões de gases poluentes, causadas pelos combustíveis derivados do petróleo. Surgiu, então, o conceito de "Desenvolvimento Sustentável", para que as futuras gerações não fossem comprometidas com o desenvolvimento atual. A chuva ácida e o efeito estufa são problemas ambientais associados à emissão destes gases poluentes.

Tecnologias limpas, que apresentem viabilidade econômica e utilizem combustíveis menos poluentes, são cada vez mais importantes nos dias atuais. O biodiesel pode ser considerado um exemplo de tecnologia limpa. Além disso, o petróleo tende a acabar em um prazo de 40-50 anos, uma vez que a demanda sempre tem superado a oferta. Assim, o preço tende a subir cada vez mais, chegando a níveis ainda maiores que os atuais. As culturas vegetais, ao contrário do petróleo, sempre são renováveis, pois utilizam a terra que pode ser cultivada em todo o planeta. Além disso, pode-se obter biodiesel de várias fontes oleaginosas, como por exemplo, soja, colza, mamona e palma. A matéria-prima varia de acordo com o clima de cada região.

Os óleos vegetais e, por conseqüência, o biodiesel, não possuem enxofre, nitrogênio ou compostos aromáticos como o petróleo e o diesel de petróleo. Estes compostos aos serem queimados geram óxidos prejudiciais ao meio-ambiente e à saúde humana. Com o uso de óleos vegetais, diminuem-se as emissões destes poluentes, sendo

possível também diminuir as emissões de material particulado e monóxido de carbono (ARANDA *et al.*, 2003).

Do ponto de vista mecânico, o biodiesel melhora a lubricidade do motor, por possuir oxigênio na sua fórmula molecular, ao contrário do diesel (hidrocarbonetos). Esta melhora da lubricidade contribui para o aumento da durabilidade dos motores movidos a óleo diesel. Além disto, o biodiesel é biodegradável e apresenta baixa toxidade.

Pode-se também, através da produção de biodiesel, contribuir em aspectos econômicos e sociais. A migração em massa para as maiores cidades pode ser contida mantendo as pessoas nas áreas rurais, com a geração de postos de trabalho no cultivo de espécies oleaginosas. Há também o caso específico da produção de etanol (no qual o Brasil é o líder mundial), que é adicionado à gasolina. A indústria alcooleira gera empregos e capital e, além disso, o etanol é uma matéria-prima para produção de biodiesel.

São visíveis os investimentos efetuados em diversas partes do planeta visando as inovações tecnológicas para o aproveitamento da bioenergia, sendo a produção de etanol um dos exemplos de maior sucesso.

Sistemas de gaseificação de biomassa acoplados a turbinas a gás para geração de eletricidade, turbinas de ciclo combinado gás/vapor, cama de circulação fluidizada (produção de gás combustível aquecido que pode ser aproveitado para geração de energia), gaseificação integrada de ciclos combinados (processo de gaseificação em que o gás combustível sintético de médio poder calorífico produzido é queimado em turbinas a gás, onde o calor residual dos gases de exaustão pode ser recuperado e aproveitado por meio de uma turbina a vapor).

Entre as inovações tecnológicas encontra-se também, a cogeração (processo de produção simultânea de energia mecânica ou elétrica e térmica que permite a otimização e o acréscimo de eficiência nos sistemas de conversão e utilização de energia), tecnologia de aproveitamento de óleos vegetais como biocombustíveis (biodiesel), produção de etanol e metanol de celulose, desenvolvimento de combustíveis, além de melhoria de processos de produção, colheita, armazenagem, transporte e processamento de biomassa, são alguns exemplos de inovações tecnológicas (MAPA, 2005). A Figura

2.1 apresenta um diagrama esquemático dos processos de conversão energética da biomassa.

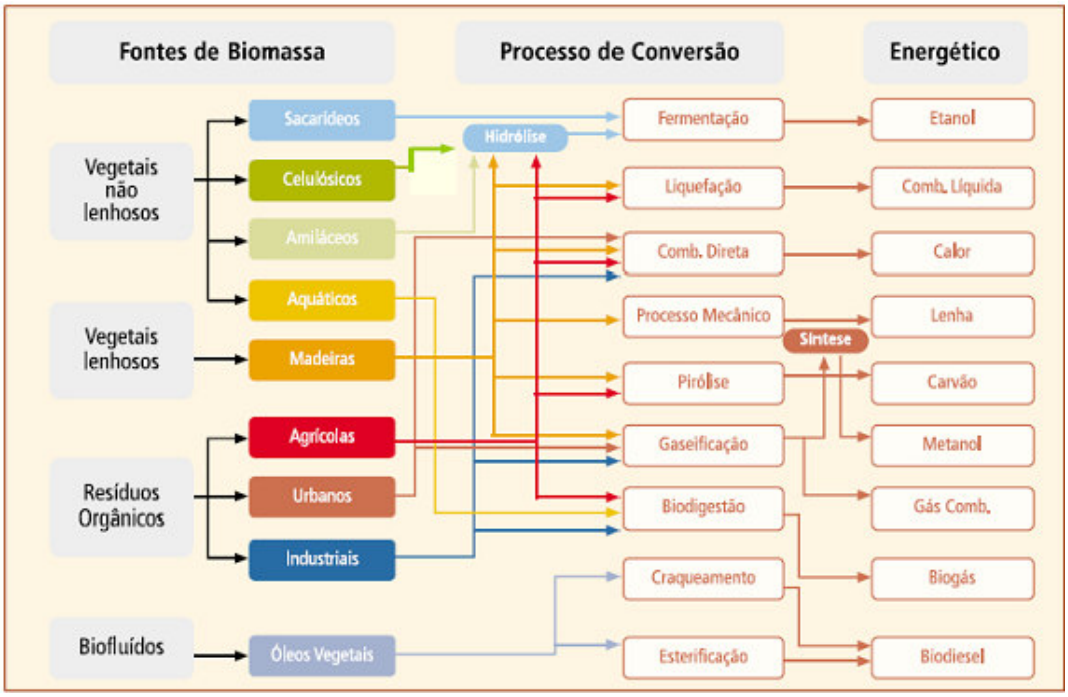



Figura 2.1: Diagrama Esquemático dos Processos de Conversão Energética da Biomassa (ANEEL, 2005)

Apesar da maioria dos biocombustíveis ainda ser mais cara do que os combustíveis fósseis, a sua utilização está crescendo em vários países do mundo. Encorajada por decisões políticas, a produção de biocombustíveis a nível mundial é atualmente estimada em mais de 98 bilhões de litros (MAPA, 2009, BIODIESELBR, 2009).

O Brasil acumulou portentosa experiência no desenvolvimento de uma pujante agroindústria, em que um dos paradigmas é justamente a agroindústria de etanol, reconhecida como a mais eficiente do mundo em termos de tecnologia de processo e de gestão. A experiência dos últimos 30 anos forjou competência de gestão e negociação na cadeia, gerando as condições para uma nova investida em outros nichos do mercado da agricultura de energia (MAPA, 2005; NAE, 2005).

## 2.1 PROCESSOS DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Existem diversos processos para produção de biodiesel: pirólise, microemulsões, esterificação e transesterificação (MA E HANNA, 1999). Os dois primeiros, atualmente, têm sido pouco utilizados, devido a facilidades associadas aos dois outros, além de o produto resultante dos dois primeiros não atingir especificação suficiente para ser utilizado.

A pirólise (craqueamento térmico) envolve aquecimento com ou sem o uso de catalisadores, em ausência de ar. Parafinas, olefinas e ácidos carboxílicos, além dos ésteres, são os principais produtos da decomposição de triglicerídeos. Pode ser uma alternativa para áreas com baixa produção de petróleo.

Microemulsões são misturas diretas de óleos vegetais com alcoóis de cadeia curta (até 4 átomos de carbono). Estas misturas, apesar de apresentarem viscosidade bem menor que a do óleo vegetal, possuem a desvantagem de combustão incompleta, além da formação de depósitos de coque (MA E HANNA, 1999).

A esterificação é a reação entre um ácido carboxílico e um álcool, tendo o éster como produto principal e a água como subproduto. É realizada com catalisadores ácidos, como ácido sulfúrico e ácido nióbico. Esta reação, mostrada na Figura 2.2 é equimolecular. Nesta figura, R representa uma cadeia longa, geralmente contendo de 16 a 22 átomos de carbono, e R´ é uma cadeia curta (até 4 átomos de carbono, predominando as cadeias de 1 e 2 átomos). Entretanto, depende de uma matéria-prima que possua elevado teor de ácidos graxos livres, ainda pouco disponível para produção em grande escala. Por isso, ainda não está totalmente consolidada.

$$\underset{\text{Ácido graxo}}{\text{R-COOH}} + \underset{\text{Álcool}}{\text{R´-OH}} \leftrightarrow \underset{\text{Biodiesel}}{\text{R-COO-R´}} + \underset{\text{Água}}{H_2O}$$

Figura 2.2: Reação de Esterificação

A técnica da esterificação para produção de biodiesel foi recentemente desenvolvida por ARANDA E ANTUNES, 2003 E 2004. A matéria-prima utilizada neste processo é o resíduo proveniente da extração do óleo de palma, ao contrário da transesterificação, que não emprega resíduos. A empresa AGROPALMA utiliza este processo em escala industrial, através do licenciamento da patente (ARANDA E

ANTUNES, 2003). A fábrica, cujas instalações estão mostradas na Figura 2.3, opera desde março de 2005. Além de ser a primeira fábrica brasileira de biodiesel, é a primeira fábrica no mundo a utilizar um catalisador heterogêneo. O catalisador utilizado nesta planta é à base de nióbio.

Figura 2.3: Fábrica da AGROPALMA, localizada em Belém-PA

RAMU *et al.,* (2004) estudaram a esterificação do ácido palmítico com metanol, com catalisadores sólidos de óxido de tungstênio suportados em zircônia. A razão molar metanol/ácido palmítico utilizada era da ordem de 160. A temperatura utilizada foi a de refluxo (ponto de ebulição do metanol, da ordem de 70°C). Foram alcançadas conversões próximas a 100% após 6 horas de reação, de acordo com a Figura 2.4, quando o catalisador utilizado continha 5% de óxido de tungstênio.

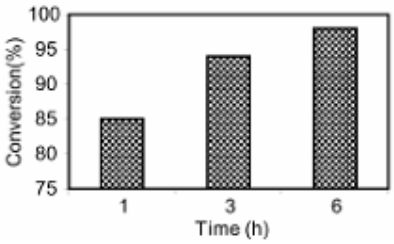



Figura 2.4: Conversão Obtida para a Esterificação de Ácido Palmítico com Catalisadores $WO_3/ZrO_2$ (RAMU *et al.,* 2004)

Um fluxograma proposto por LIMA, 2004, com as diversas etapas para produção de biodiesel, é apresentado na Figura 2.5. Nele, estão contempladas todas as etapas do processo, desde a preparação da matéria-prima até as etapas finais de purificação para que o biodiesel esteja dentro das especificações.

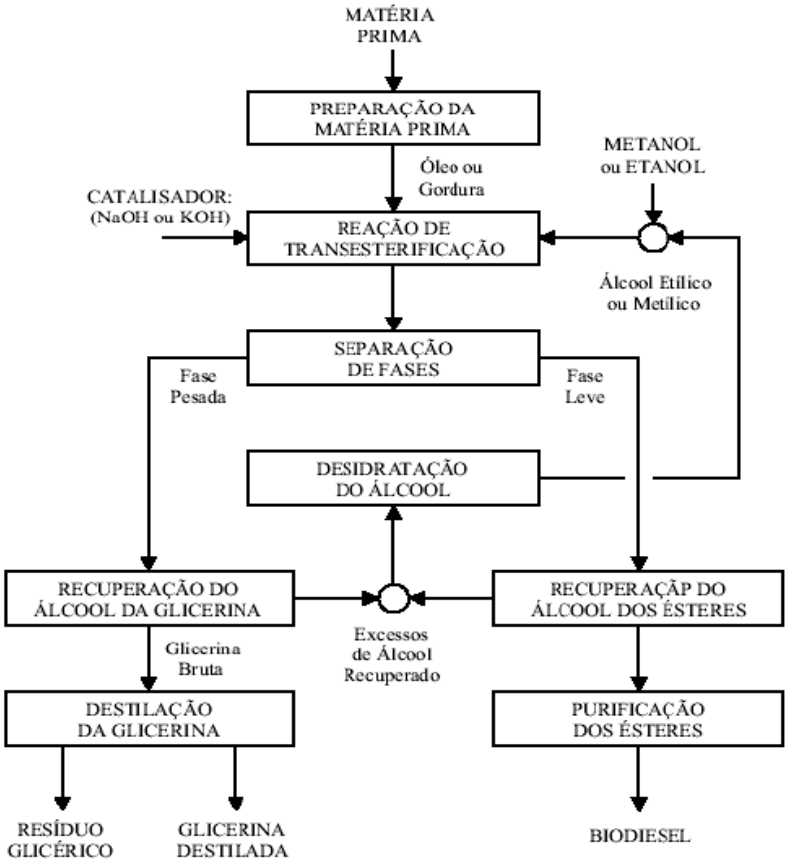



Figura 2.5: Fluxograma para Produção de Biodiesel (LIMA, 2004)

Dentre estes processos, o mais utilizado é a transesterificação. Pode ser realizado com catalisadores básicos, ácidos ou enzimáticos. Esse nome é dado quando a matéria-prima original é um éster, que é o caso dos triglicerídeos (óleos vegetais ou gorduras animais), os triacil gliceróis. Eles são compostos por uma molécula de glicerol combinada com três moléculas de ácidos graxos, de acordo com a Figura 2.6. Os produtos da reação de uma molécula de triglicerídeo com três moléculas de álcool são 3 moléculas de éster (biodiesel) e uma molécula de glicerol. Na Figura 2.6, R1, R2 e R3 são cadeias carbônicas longas (usualmente entre 14 e 22 átomos de carbono com até 3

ligações duplas), e R´, em geral, uma cadeia curta (até 4 átomos de carbono, predominando as cadeias de 1 e 2 átomos).

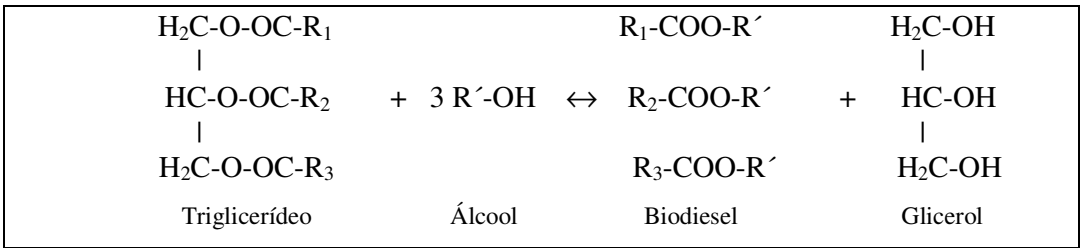



Figura 2.6: Reação de Transesterificação

## 2.2 NATUREZA DA MATÉRIA-PRIMA

Diversas matérias-primas podem ser utilizadas para produção de biodiesel, entre as mais utilizadas estão os óleos vegetais (refinados ou utilizados em frituras) e as gorduras animais. Os óleos vegetais mais utilizados são: soja, mamona, palma, colza, girassol, algodão e milho. A diferença entre eles está na composição em ácidos graxos. A Tabela 2.1 apresenta a composição típica, em ácidos graxos, de alguns triglicerídeos utilizados na transesterificação.

Tabela 2.1: Composição típica (%) dos Principais Triglicerídeos Utilizados na Produção de Biodiesel. O Número xx-y Representa o Número de Átomos de Carbono da Cadeia (xx) Juntamente Com o Número de Duplas Ligações (y).

| | **14-0 (xx-y)** | **16-0 (xx-y)** | **18-0 (xx-y)** | **18-1 (xx-y)** | **18-2 (xx-y)** | **18-3 (xx-y)** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Soja** | | 12 | 3 | 23 | 55 | 6 |
| **Sebo** | 4 | 23 | 20 | 43 | 3 | 1 |
| **Palma** | | 43 | 5 | 41 | 10 | |
| **Girassol** | | 6 | 3 | 18 | 74 | 1 |

Fontes: MA E HANNA (1999); SRIVASTAVA (2000); DEMIRBAS (2005).

Todos estes triglicerídeos apresentam, como pode ser notado pela tabela acima, composições bem semelhantes em ácidos graxos, apresentando os mesmos ácidos. O óleo de mamona possui uma particularidade, pelo fato de apresentar na sua composição o ácido ricinoléico, com cerca de 90%. Este ácido possui 18 átomos de carbono em sua cadeia, e no carbono 12 está ligada uma hidroxila (OH). Esta hidroxila faz com que o óleo de mamona possua propriedades bem diferentes dos outros óleos, especialmente a

viscosidade. O óleo de soja, tipicamente, apresenta viscosidade cinemática em torno de 30 $mm^2/s$. Já para o óleo de mamona, o valor desta viscosidade se situa na faixa de 270 $mm^2/s$.

## 2.3 DENDÊ

Entre as oleaginosas cultivadas, o dendezeiro ou palma como é conhecido é a planta que apresenta a maior produtividade por área cultivada. Produz, em média, 10 vezes mais óleo do que a soja. Em condições ecológicas excelentes, pode produzir até 8 toneladas de óleo por ha/ano. Na Amazônia, produções de 4 a 5,5 toneladas de óleo/ha/ano são normalmente obtidas tanto nas pesquisas da Embrapa quanto em plantações comerciais. Esses resultados são possíveis em quase toda a Amazônia, com regime de chuvas melhor distribuído e déficit hídrico de até 200 mm/ano.

O dendê é uma planta perene, uma palmeira de grande porte. Com as práticas culturais adotadas no seu cultivo, constitui-se em um sistema de produção agroindustrial, com aceitável estabilidade ecológica e baixos impactos negativos ao ambiente. Tem a vantagem de ser um sistema altamente produtivo e permanentemente valorizado, em substituição à agricultura itinerante e ao extrativismo predatório da floresta, dominantes na Amazônia e insustentáveis, além de baixa capacidade de geração de renda.

A planta produz três anos após o plantio e tem sua produção distribuída ao longo do ano, por mais de 25 anos consecutivos. É excelente atividade para a geração de empregos permanentes, com excelente remuneração, ideal para projetos de colonização. A dendeicultura é uma das poucas opções viáveis para a Amazônia, contribui com o meio ambiente, sem limitações tecnológicas. A dendeicultura irrigada poderá ser uma grande opção sustentável para a geração de ocupação e renda para as regiões menos chuvosas da Amazônia (Sul do Pará, Rondônia, etc), pré-Amazônia (Mato Grosso, Maranhão, Tocantins) e até mesmo para o Nordeste e o cerrado brasileiro, com potencial de produção que pode chegar até 8 toneladas de óleo/hectare/ano.

O fruto de dendê produz um tipo de óleo, extraído por processos físicos: pressão e calor, sem uso de solventes químicos. O óleo de palma ou dendê ocupa hoje o 1º lugar na produção mundial de óleos e ácidos graxos, ultrapassando a soja. Graças ao seu baixo custo de produção, boa qualidade e ampla utilização. O óleo de palma é aplicado

como matéria-prima para diferentes segmentos nas indústrias alimentícias, de sabões e cosméticos, oleoquímicas e farmacêuticas. Atualmente, é mais usado na indústria alimentícia, responsável pela absorção de 80% da produção mundial.

O óleo de dendê está entre os mais qualificados para o biodiesel, por sua composição, alta produtividade, seu baixo custo, produção distribuída ao longo de todo o ano, oferta regular e crescente, além de destinar-se a áreas de distintas de produção, não competindo com outros cultivos alimentares. O biodiesel precisará contar com todas as vantagens do óleo de dendê para realizar todo o seu potencial social, econômico e ecológico na matriz energética brasileira e mundial.

Figura 2.7: O Dendezeiro (*Elaeis guinaeensis*)

### 2.3.1 Processamento dos Frutos De Palma

Os frutos colhidos no campo são transferidos para a rampa ou moega de recebimento de onde são transferidos para os carros, os carros são conduzidos através de uma via de trilhos para o esterilizador, onde os frutos são cozidos sob pressão de 2 a 3 kg/cm2, por aproximadamente 60 minutos, a uma temperatura de mais ou menos 135ºC.

Após cozimento, os frutos são basculados através da talha sobre o transportador alimentador do debulhador. O transportador alimenta o debulhador, onde ocorre a separação dos cachos e frutos, os frutos são transferidos através do transportador para o digestor.

Os cachos vazios são transferidos para a área de estocagem através de transportador, os frutos são macerados no digestor, formando uma massa de volume reduzido, que é prensada na prensa contínua.

Nas primeiras fases do beneficiamento são extraídos o óleo de palma bruto e a amêndoa de palmiste, o óleo cru, obtido na prensagem, é transferido para o desaerador, onde se retira as partículas pesadas e, a seguir, filtra-as na peneira vibratória. As fibras e impurezas retidas na peneira voltam para a prensagem e o óleo cru é transferido para o tanque de decantação, através de bomba centrífuga. No tanque de decantação ocorre a separação de fases entre óleo e borra.

O óleo decantado é transferido para o tanque de armazenagem. A borra é processada na centrífuga e transferida para o decantador secundário, onde após separação do óleo residual é transferida para as lagoas de aeração, todo o óleo separado da borra volta para o tanque de decantação.

A torta resultante do processo de prensagem é processada no transportador, onde ocorre a secagem da fibra. No final do transportador a fibra seca é transferida através de sistema de transporte pneumático, para utilização como combustível na caldeia a vapor.

As nozes são transferidas para o tambor polidor, de onde se retira o resíduo das fibras, a seguir são transferidos para o moinho quebrado, onde a mistura casca + nozes vai para um transportador. As partículas finas das cascas são incorporadas ao sistema pneumático que leva as fibras para a caldeira.

As amêndoas são separadas das cascas em uma mesa de separação por gravidade. As cascas são destinadas para combustível, podendo ser utilizadas, também, como revestimento em estradas vicinais ou como matéria-prima em plantas de carvão ativado. As plantas instaladas no Brasil têm a configuração mostrada no fluxograma (Figura 2.8).

As amêndoas são armazenadas para posterior beneficiamento.

TRANSPORTE ------ ENTRADA NA USINA ------ ESTERILIZAÇÃO

DEBULHAMENTO ------ EXTRAÇÃO ------ CLARIFICAÇÃO ------ **ÓLEO CRU**

Figura 2.8: Fluxograma do Processamento de Óleo de Palma.

**PROCESSO DE REFINO:**

FÍSICO ------ PRÉ-BRANQUEAMENTO --------

DESACIDIFICAÇÃO E DESODORIZAÇÃO ------- **ÓLEO DE PALMA RDB**

ALCALI ------ NEUTRALIZAÇÃO ------ BRANQUEAMENTO

DESODORIZAÇÃO ------ **ÓLEO DE PALMA RDB**

Figura 2.8: Fluxograma do Processamento de Óleo de Palma.

O interesse pelo biodiesel cresceu após o governo federal ter criado, através do Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT), o Programa Brasileiro de Biodiesel (Probiodiesel). A Bahia tem tudo a ganhar com a proposta do MCT e da Petrobras em apoiar ações para cumprir a meta do B5, que consiste em adicionar 5% de biodiesel em todo diesel consumido no país até 2013 de acordo com a ANP. A proposta federal coloca o estado em excepcional condição, tendo em vista as suas amplas possibilidades de cultivo das principais fontes de matéria-prima para a produção do biodiesel, entre elas o dendê.

Recentemente, o país desenvolveu uma tecnologia que aponta a utilização do álcool etílico na rota de produção do biodiesel em substituição ao metanol. O Brasil é o segundo maior produtor de etanol, o maior exportador mundial, e é considerado o líder internacional em matéria de biocombustíveis e a primeira economia a ter atingido um uso sustentável dos biocombustíveis. Em 2008 a produção brasileira de etanol foi de 22,5 bilhões de litros. Os Estados Unidos lideram a produção com 34 bilhões de litros (USDA, 2009).

O produto pode ser utilizado como substituto quando adotado como combustível puro (B100), ou como Blend ao diesel comum. A dosagem pode variar de 5% (B5) a 20% (B20), ou em baixas proporções como aditivo, variando de 1% a 4%.

Hoje no Brasil existem 65 plantas autorizadas pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) a operar no país, com capacidade total de produção de 4,3 bilhões de litros ao ano. Em abril de 2009, a produção foi de 105,71 milhões de litros, conforme Figura 2.9, enquanto a demanda nacional foi de 105,94 milhões de litros para o mesmo período. A demanda por óleo diesel em 2009 está 5,1%

menor que no mesmo período do ano passado, em conseqüência da diminuição da atividade econômica. No acumulado do ano, a produção aumentou 43% na comparação com o mesmo período de 2008, atingindo 510,5 milhões de litros nos 5 primeiros meses de 2009 (PORTAL BIODIESELBR, 2009).

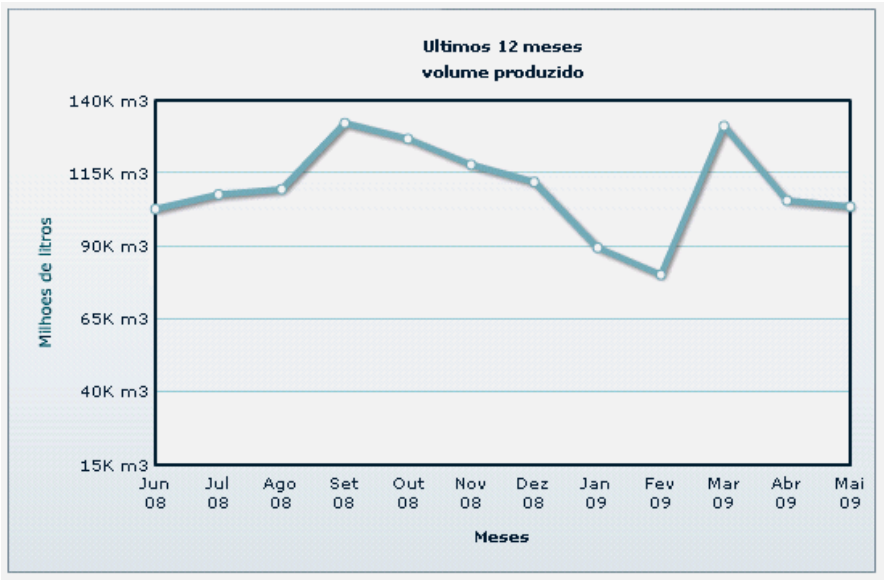



Figura 2.9: Produção de Biodiesel Mensal.

Conforme mencionado anteriormente, resíduos ácidos, provenientes do refino de óleos vegetais, também podem ser utilizados na produção de biodiesel pela rota da esterificação. A utilização deste tipo de matéria-prima diminui o custo de produção, uma vez que o custo destes resíduos, que representam um passivo ambiental e não teriam outra utilização, é negativo. Esta redução pode fazer com que o biodiesel produzido tenha um custo mais atrativo, quando comparado com o diesel de petróleo.

## 2.4 BAGAÇO DE DENDÊ COMO MATERIAL LIGNOCELULÓSICO

O Brasil possui o maior potencial mundial para a produção do óleo de dendê dado aos quase 75 milhões de hectares de terras aptas a dendeicultura e tem capacidade para produzir combustíveis alternativos a partir de diversas espécies oleaginosas, favorecido pelas características edafoclimáticas.

Em 2006, pela primeira vez, a produção mundial de óleo de palma (dendê) ultrapassou a produção de óleo de soja. A produtividade de óleo por hectare da palma é

cerca de dez vezes a produtividade de óleo de soja (5.000 L/ha contra 500 L/ha). Além dessa alta produção de óleo, a palma produz em massa, uma quantidade ainda muito maior de biomassa (fibras dos frutos, cachos, palha, folhas).

Esse mercado será responsável pela geração de bilhões de toneladas/ano de resíduos oriundos do processamento de oleagionasas para a produção do biodiesel. Um grande desafio desse cenário é promover agregação de valor a esse resíduo, tornando a indústria do biodiesel mais competitiva. Uma estratégia possível é aproveitar a fibra celulósica existente nessa biomassa residual, para a produção de bioetanol através de processos hidrolíticos e fermentativo.

Essa biomassa é composta basicamente de material ligninocelulósico, com alto potencial de produção de carboidratos por hidrólise seguida de fermentação para produção de etanol, constituindo-se em uma fonte abundante e renovável de matéria-prima que pode ser utilizada em processos biotecnológicos. Portanto, a palma é uma das poucas espécies conhecidas que podem gerar ao mesmo tempo grande quantidade de óleo (conseqüentemente biodiesel) e etanol.

A biomassa de dendê é constituída por celulose, um polímero da glicose formado por seis carbonos, as hexoses; por hemicelulose, composta por açúcares de cinco carbonos, chamados de pentoses, não aproveitados ainda para a produção de açúcar; e pela lignina, um material estrutural da planta, associado à parede vegetal celular, responsável pela rigidez, impermeabilidade e resistência a ataques microbiológicos e mecânicos aos tecidos vegetais. Para que as biomassas possam ser utilizadas como matérias-primas para processos químicos e biológicos elas precisam ser submetidas a um pré-tratamento para desorganizar o complexo lignocelulósico (PEREIRA Jr. *et al*., 2006).

Os materiais lignocelulósicos possuem um alto conteúdo de carboidratos (cerca de 70% da massa) constituindo-se em uma fonte abundante e renovável de matéria-prima que pode ser utilizada em processos biotecnológicos. Esses materiais lignocelulósicos são formados por estruturas duras e fibrosas, compostas basicamente de hemicelulose e celulose, entremeadas por uma macromolécula composta por alcoóis aromáticos, a lignina, que se encontra unida por ligações covalentes e de hidrogênio, conforme ilustrado na Figura 2.10 (LEE, 1997). Em menores proporções podem ser encontradas também resinas, taninos, ácidos graxos, fenóis, compostos nitrogenados e

sais minerais, principalmente, de cálcio, potássio e magnésio (SHLESER, 1994; OLSSON & HAHN-HÄGERDAL, 1996, NEUREITER *et al*., 2002).

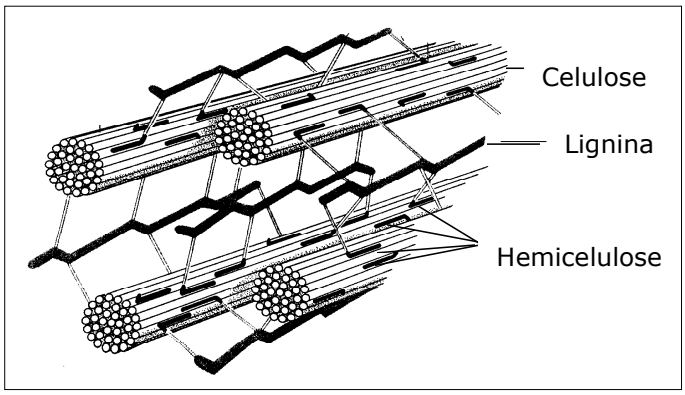



Figura 2.10: Esquema Estrutural Simplificado das Fibras do Material Lignocelulósico
Adaptado de SHLESER (1994)

A composição básica do material lignocelulósico depende do vegetal de origem, da espécie da planta, da região de cultivo, idade e período do ano em que se realiza a colheita do material, dentre outros fatores que a influenciam (HASSUANI, 2005). A Tabela 2.2 ilustra algumas fontes de material lignocelulósico e sua composição básica aproximada, na qual EFB = Resíduo sólido produzido em maior quantidade e PPF= Fibra prensada de palma (porcentagem das frações celulósica, hemicelulósica, lignina, cinzas, óleo, umidade e outros).

Tabela 2.2: Composição Média de dois Resíduos Sólidos (EFB e PPF) Obtidos durante a Extração Óleo de Palma

| **Componente** | **Composição %(m/m)** | |
|---|---|---|
| | **EFB** (Resíduo sólido produzido) | **PPF**(Fibra prensada de Palma) |
| Celulose | 15,47 | 24,00 |
| Hemicelulose | 11,73 | 14,40 |
| Lignina | 7,14 | 12,60 |
| Cinzas | 0,67 | 3,00 |
| Óleo | - | 3,48 |
| Outros | - | 2,52 |
| Umidade | 65,00 | 40,00 |

Fontes: ABDUL AZIZ *et al*. (2002a,b); WAN ZAHARI AND ALIMON (2004).

O desenvolvimento de enzimas eficientes para processar as fibras e a palha é uma das vias para sair do atual patamar de produção sem precisar aumentar a área

plantada. É possível aproveitar de forma integral essas biomassas residuais para a produção de etanol, tanto da fração celulósica quanto da hemicelulósica, um composto do grupo químico dos açúcares presente entre as fibras de celulose.

Os processos de hidrólise da celulose podem ser químicos ou enzimáticos. O primeiro, de maior conhecimento, dá-se em condições estabelecidas de temperatura (pressão), tempo de exposição, tipo e concentração de ácido, bem como relação sólido:líquido, à semelhança da pré-hidrólise. No entanto, a hidrólise química (ácida) da celulose vem sendo abandonada em substituição à hidrólise enzimática. A opção pela hidrólise enzimática da celulose decorre da ausência de condições severas.

Com o aumento da quantidade de excedente de bagaço e a existência de processos mais eficientes para a extração de glicídios, o bagaço poderia ser destinado a etapas de pré-tratamento e posterior transformação em substâncias de maior interesse, aumentando a produtividade das indústrias, sem acréscimos nas áreas de plantio. No caso brasileiro, estima-se que o bagaço excedente, se fosse utilizado na produção de etanol, permitiria duplicar a produção deste combustível no país sem aumentar as áreas de plantio (BETANCUR, 2005; PEREIRA Jr., 2006).

### 2.4.1 Hemicelulose

A hemicelulose é uma mistura de polissacarídeos de baixa massa molecular que estão intimamente associados com a celulose nos tecidos das plantas. A hemicelulose é uma macromolécula, em cuja composição podem aparecer, condensadas em proporções variadas, as seguintes unidades de açúcar: β-D-xilose, β-D-manose, β-D-glicose, α-L-arabinose, α-D-galactose, ácido β-D-glucurônico, ácido β-D-galacturônico e ácido α-D-4-O-metilglucurônico, dependendo da origem da matéria prima (FONSECA, 2003; DELGENES *et al.*, 1988). A Figura 2.11 representa os esquemas das estruturas químicas dos componentes hemicelulósicos.

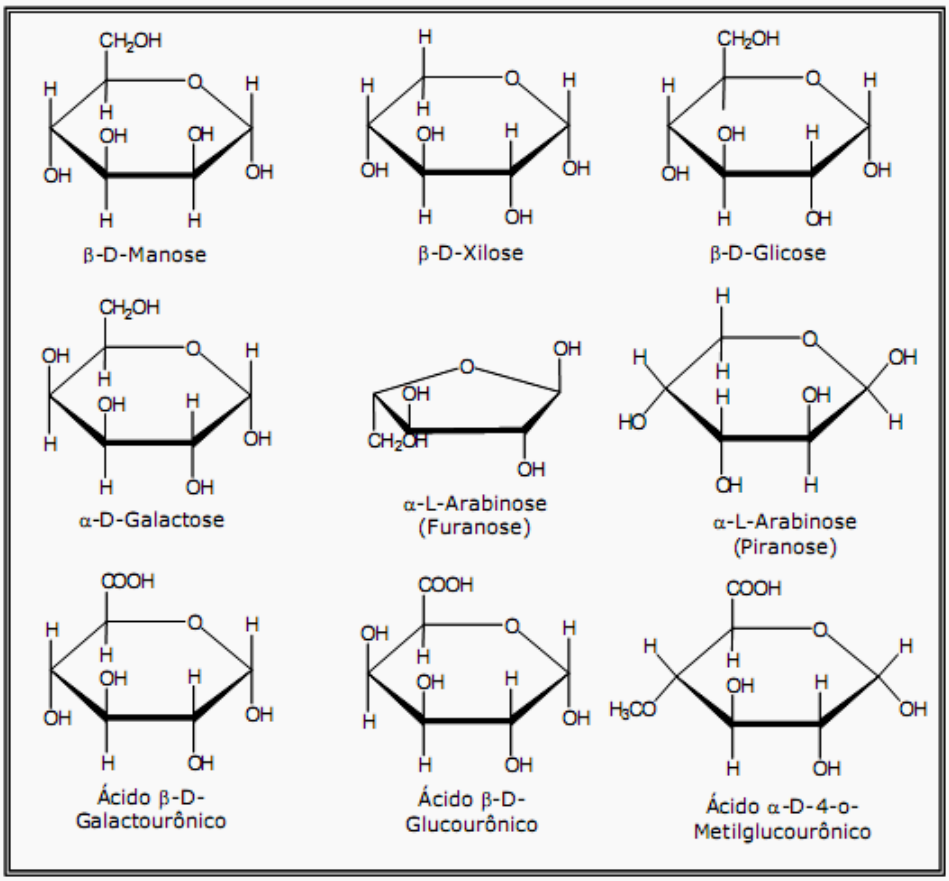



Figura 2.11: Estruturas Químicas dos Monômeros Constitutivos da Hemicelulose.
(D'ALMEIDA, 1988)

É importante lembrar que o termo hemicelulose não designa um composto químico definido, mas sim uma classe de componentes poliméricos presentes em vegetais fibrosos, possuindo, cada componente, propriedades peculiares. Como no caso da celulose e da lignina, o teor e a proporção dos diferentes componentes encontrados nas hemiceluloses da madeira variam grandemente entre diferentes espécies e, provavelmente, também indivíduos da mesma espécie (D'ALMEIDA, 1988).

### 2.4.2 Celulose

A celulose, o maior constituinte da parede celular das plantas e uma das estruturas constantemente regenerada, é um homopolissacarídeo linear composto por unidades de β-D-glicose, unidas por ligações β(1-4) carbono-carbono (Figura 2.12 (A)) (PANDEY, 2000; LEE, 1997). Este homopolissacarídeo possui entre 8000 e 14000

unidades de glicose, dependendo do tipo de planta, apresentando uma massa aproximada de 2,3 milhões de umas (unidades de massa atômica) (SHLESER, 1994).

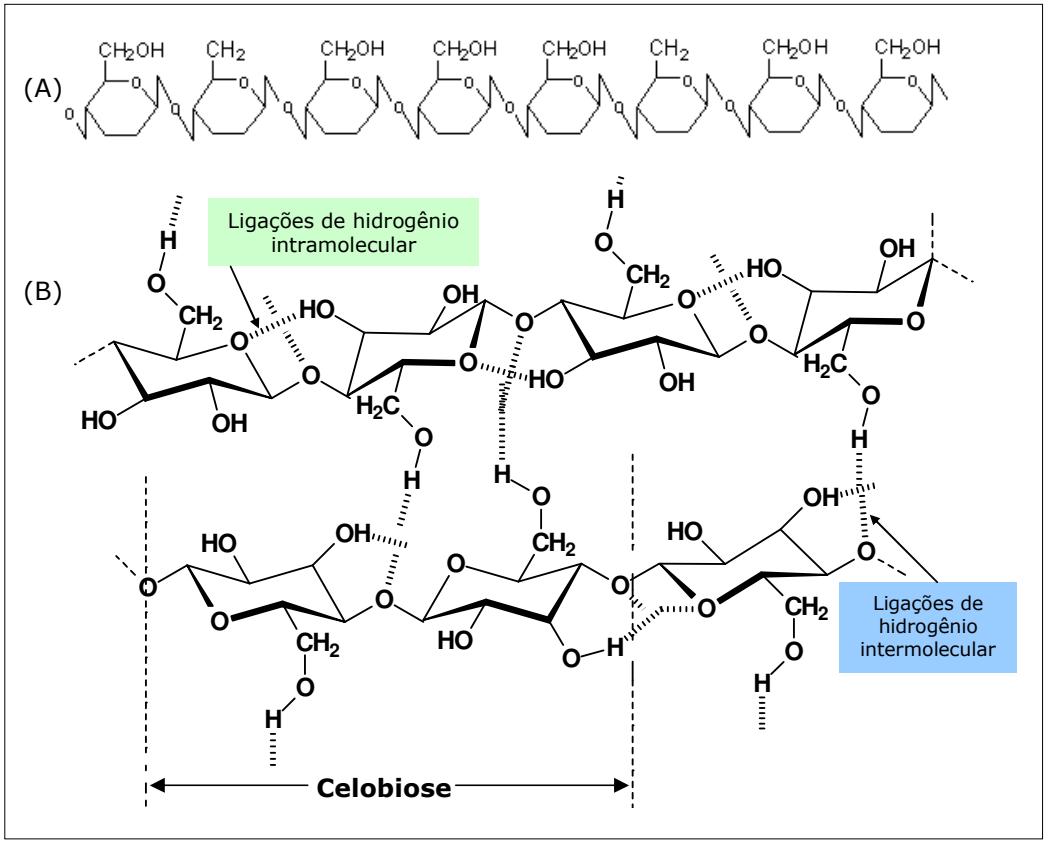



Figura 2.12: Disposição das Moléculas de Glicose, Unidas por Ligações Glicosídicas(A) (COUGHLAN, 1985 *apud* LEMOS, 2001); Estrutura simplificada da Celulose (B) (PEREIRA Jr., 1991)

As cadeias de celulose formam entre si ligações de hidrogênio intramoleculares (O6-H-O2' e O6-H-O3') e intermoleculares (O3-H-O5') (Figura 2.12 (B)). Estas ligações conferem alta rigidez e ordenação à estrutura, criando as denominadas regiões cristalinas, responsáveis pela insolubilidade e pouca reatividade da celulose, sendo esta uma das maiores barreiras para o aproveitamento biotecnológico da fração (LEMOS, 2001).

A hidrólise ácida de celulose em ácido diluído envolve condições de pressão e temperatura elevadas e tempos de exposição baixos, mas só é possível alcançar conversões próximas de 50% de celulose em glicose. Já, altas concentrações de ácido (40-70%) envolvem tempos longos e temperaturas moderadas promovendo conversões

de celulose de até 90%. Apesar disto, os processos de hidrólise ácida da celulose geram, devido às suas condições drásticas, compostos derivados da glicose (furfurais), que são inibidores microbiológicos, impossibilitando as etapas de bioconversão e fermentação microbiológicas desejadas em processos posteriores (BADGER, 2002).

A Tabela 2.3 elucida as diferenças básicas entre a celulose e a hemicelulose de forma resumida.

Tabela 2.3: Diferenças entre Hemicelulose e Celulose (PEREIRA Jr., 2008)

| CELULOSE | HEMICELULOSE |
|---|---|
| Unidades de glicose unidas entre si. | Unidades de diferentes açúcares ligadas entre si (arabinose, manose, glicose, xilose, etc.). |
| Apresenta grau de polimerização elevado (8000 e 14000 unidades de glicose). | Apresenta grau de polimerização baixo (60 e 200 unidades de açúcares). |
| Forma arranjo fibroso. | Não forma arranjo fibroso. |
| Possui regiões amorfas e cristalinas. | Possui somente regiões amorfas. |
| É atacada lentamente por ácido mineral diluído quente. | É atacada rapidamente por ácido mineral diluído quente. |
| É insolúvel em álcali. | É solúvel em álcali. |

### 2.4.3 Lignina

A lignina, presente em todas as plantas superiores, é a responsável pela rigidez da parede celular em vegetais, da sua resistência ao impacto, compressão e dobra, sendo também um agente permanente de ligação entre as células (LEMOS, 2001). Cabe destacar que os compostos derivados da lignina, quando liberados, dificultam os processos fermentativos. Estruturalmente, é uma complexa macromolécula aromática, hidrofóbica e opticamente inativa, com numerosas ligações cruzadas (aproximadamente 10 tipos diferentes). Deriva-se da polimerização desidrogenativa de três álcoois: álcool trans-coniferílico, trans-p-cumárico e álcool trans-sinapílico (Figura 2.13) (CARAMEZ, 1999).

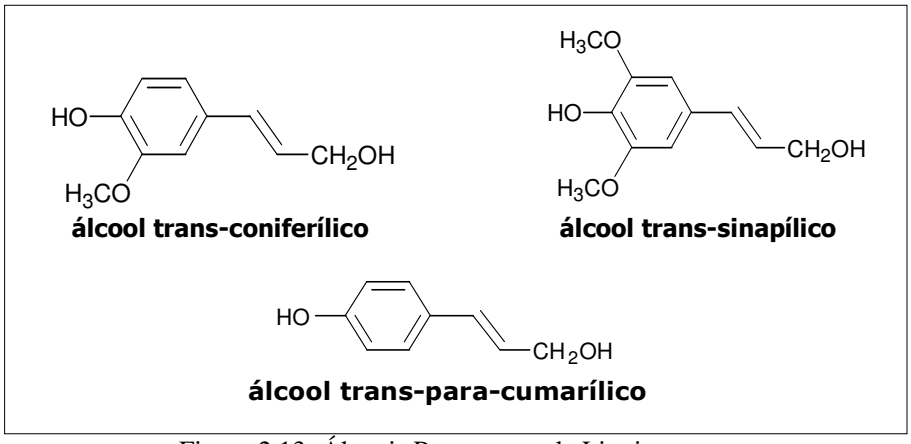



Figura 2.13: Álcoois Precursores da Lignina
Fonte: D'ALMEIDA (1988)

Durante o processo de formação da lignina, reações secundárias levam a ligações entre a macromolécula e a hemicelulose formando uma matriz que envolve a celulose, criando um dos impedimentos para a hidrólise das estruturas polissacarídicas. Essas ligações são formadas entre as unidades de fenil-propano da lignina e os resíduos de ácido glicurônico e arabinose das xilanas (LEMOS, 2001; FAIRBANKS, 2003).

## 2.5 PROCESSOS PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL

Desde os tempos antigos, o álcool foi produzido por meio de diversos processos artesanais de fermentação, principalmente, para produção de bebidas de consumo humano. Atualmente, graças ao desenvolvimento da microbiologia industrial, o álcool é produzido em quantidades que permitiram seu uso como combustível e matéria-prima para diversos produtos químicos.

Apesar de serem conhecidos os processos químicos de produção de etanol, o processo de fermentação é ainda o mais utilizado por ser mais econômico. Essa vantagem deve-se, principalmente, ao grande número de matérias-primas naturais baratas (açucaradas e amiláceas, principalmente) que podem ser utilizadas (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

Em termos gerais, o processo de bioprodução de etanol pode ser resumido da seguinte forma: a matéria-prima, seja qual for sua origem, é submetida a um pré-tratamento ou uma adequação (física, química ou enzimática) para a liberação dos carboidratos na sua forma monomérica, sendo assim disponibilizados para a realização da fermentação alcoólica, em condições anaeróbias, realizada utilizando leveduras do

gênero *Saccharomyces*, sendo a mais comum a da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Contudo, diversas outras leveduras possuem a capacidade de produzir tal composto, como também algumas espécies de bactérias (LEAL, 2004; SOMAVILLA & GOMES NETO, 2005).

É uma das concepções mais antigas e caracteriza-se pela disponibilização dos açúcares, por via química ou enzimática, em um precedente da fermentação.

Inicialmente utilizaram-se agentes químicos como catalisadores da hidrólise total da estrutura (Figura 2.14). Porém, devido á necessidade de alta severidade do processo, os hidrolisados gerados possuem um alto número de compostos inibidores de fermentação. Por isso, podem ser requeridas etapas posteriores de desintoxificação, impossibilitando a realização da fermentação em forma simultânea ao processo hidrolítico, ou a diluição dos hidrolisados para aumentar sua fermentabilidade. Sob esta concepção, atualmente abandonada, o aproveitamento da totalidade dos açúcares, incluídas pentoses, exige o desenvolvimento de microrganismos geneticamente modificados (FAIRBANKS, 2003)

Posteriormente, tem se concebido uma hidrólise enzimática do material lignocelulósico nas condições ótimas de pH e temperatura das celulases. A dificuldade deste processo reside no acúmulo da glicose e polissacarídeos, provenientes da própria hidrólise do material, que atuam como inibidores enzimáticos das enzimas envolvidas, decorrendo de uma hidrólise incompleta da celulose. Uma vez terminada esta etapa, o resíduo sólido é separado e o sobrenadante empregado como base para o meio de fermentação (WINGREN et al. 2003; McMILLAN, 2004).

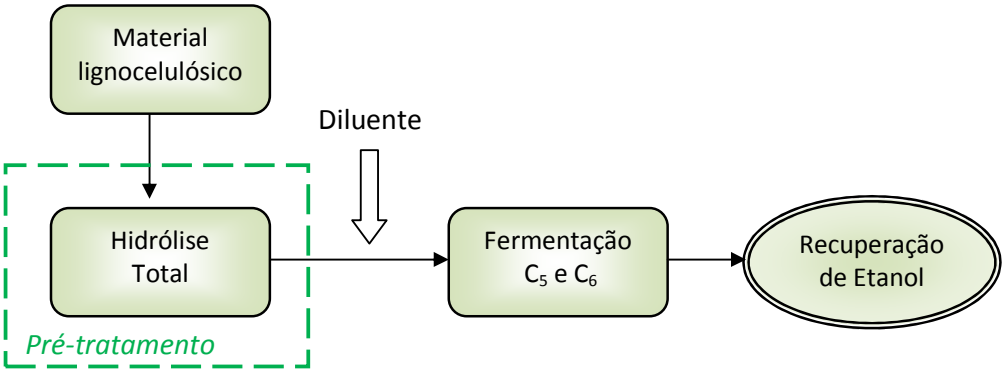



Figura 2.14: Diagrama de Blocos do Processo com Hidrólise Ácida Total (WINGREN *et al*. 2003)

Adicionalmente, tem-se sugerido a utilização de ácido diluído na hidrólise para a separação seletiva da fração hemicelulósica, sendo a celulose hidrolisada via enzimática em uma outra etapa, independente do processo de fermentação em um sistema denominado "SHF" (separated hydrolyses and Fermentation) (Figura 2.15).

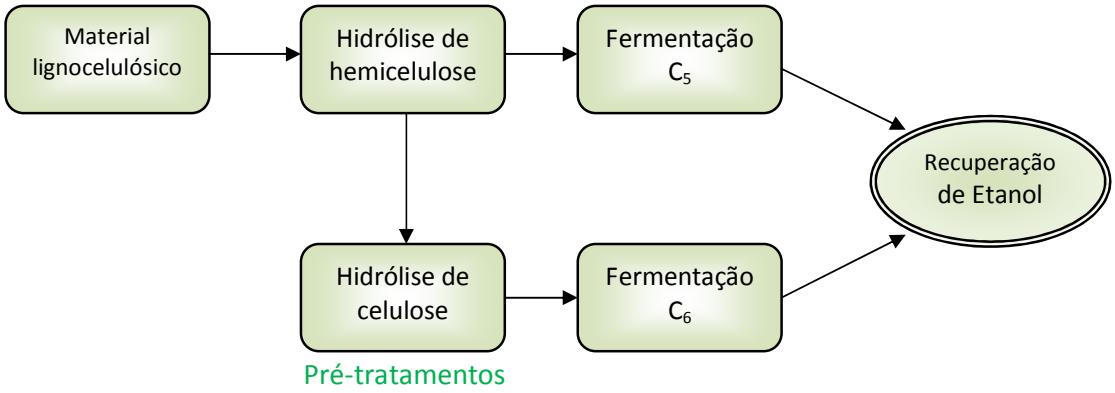



Figura 2.15: Diagrama de Blocos do Processo SHF com Hidrólise Seletiva de Hemicelulose. (WINGREN *et al* 2003)

### 2.5.1 Sacarificação e Fermentação Simultâneas (SSF)

Neste caso, a sacarificação e fermentação da fração celulósica ocorrem numa única etapa, sendo realizada enzimaticamente a hidrólise da macromolécula, possibilitando o sinergismo com o microrganismo fermentador.

Em etapas separadas são realizadas o fracionamento e hidrólise da hemicelulose, assim como a fermentação dos açúcares gerados neste processo. As enzimas empregadas no processo, o complexo celulásico, são também produzidas separadamente (WINGREN *et al*. 2003; SIVERS & ZACHHI 1996). Na Figura 2.16 representa-se em diagrama de blocos as principais etapas para este processo.

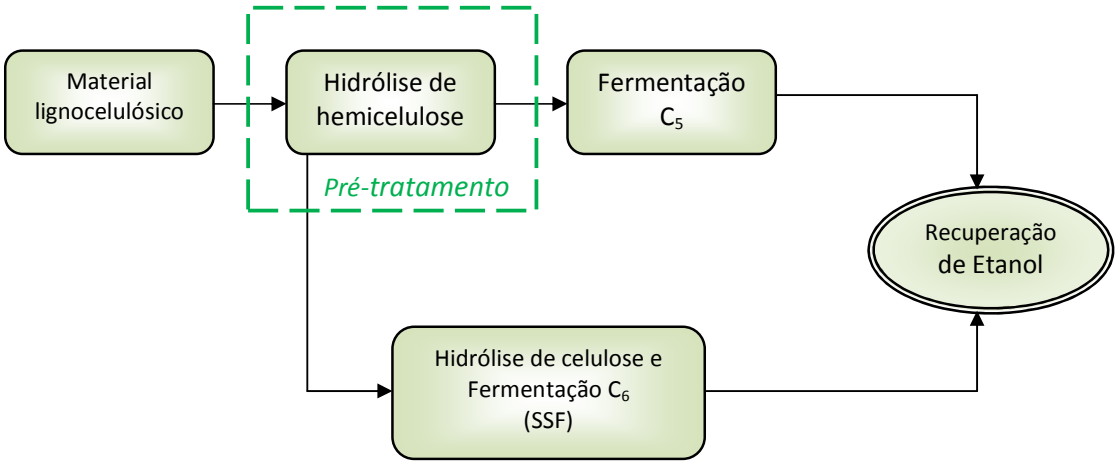



Figura 2.16: Diagrama de Blocos do Processo SSF

### 2.5.2 Sacarificação com Co-fermentação Simultânea (SSCF)

Este processo envolve 3 etapas, das quais a hidrólise da fração hemicelulósica e a produção de celulases ocorrem separadamente (Figura 2.17). A hidrólise da celulose e a fermentação, tanto das pentoses quanto das hexoses, acontecem simultaneamente, num mesmo equipamento, sendo geralmente necessário o auxílio da biologia molecular para o desenvolvimento de microrganismos capazes de fermentar pentoses e hexoses.

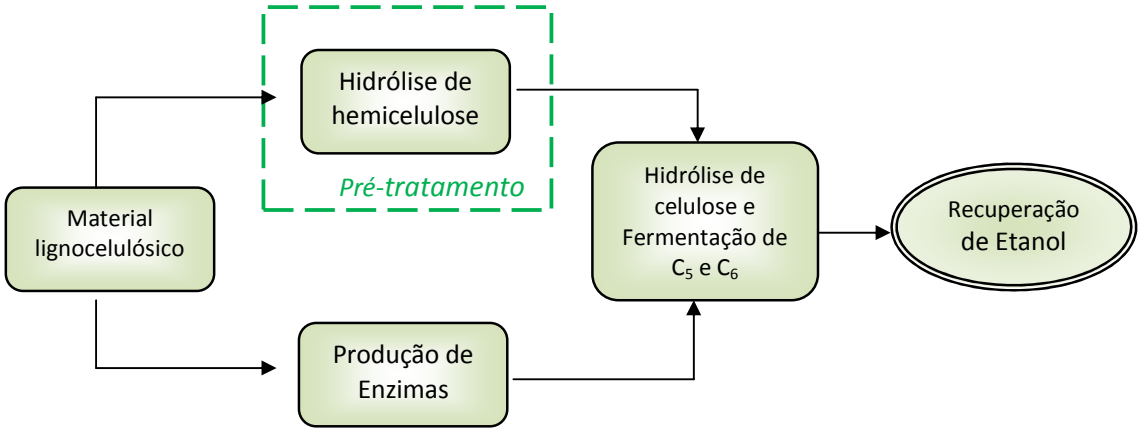



Figura 2.17: Diagrama de Blocos do Processo SSCF

### 2.5.3 Bioprocesso Consolidado (CBP)

É o processo de concepção mais complexo devido ao envolvimento de, pelo menos, 3 das etapas num único equipamento (Figura 2.18). Para este processo será necessário recorrer às ferramentas modernas, como a engenharia genética, no intuito de se obter um microrganismo que consiga produzir diversas enzimas que permitam a clivagem dos complexos hemicelulósico e celulósico, e alta habilidade fermentativa, tanto de pentoses quanto hexoses.

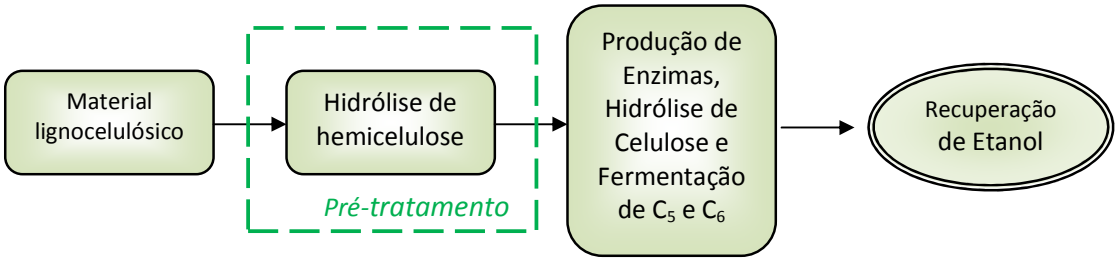



Figura 2.18: Diagrama de Blocos do Processo CBP-1

O segundo diagrama (Figura 2.19) representa o horizonte tecnológico para a produção de etanol a partir de material lignocelulósico. Um processo no qual todas as etapas críticas para a obtenção de um produto são realizadas em um único equipamento, com um único microrganismo. É uma perspectiva a longo prazo, onde a engenharia genética terá um papel indispensável.

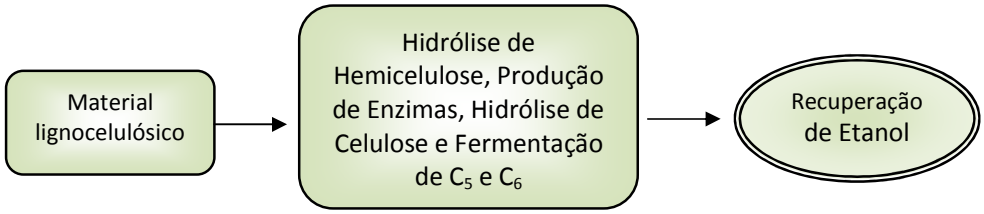



Figura 2.19: Diagrama de Blocos do Processo CBP-2

## 2.6 PRÉ-TRATAMENTOS PARA MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

O pré-tratamento é um processo que tem como objetivo clivar seletivamente as ligações que unem as macroestruturas, separando assim, as frações lignocelulósicas, adequando a matéria-prima às condições de transformação requeridas para uma ação

eficiente dos microrganismos ou enzimas a serem empregados. Os processos de pré-tratamento podem ser classificados como físicos, físico-químicos, químicos e biológicos, conforme o agente que atua na alteração estrutural (PALMQVIST & HAHN-HÄGERDAL 2000A, ADSUL *et al.*, 2005).

Os pré-tratamentos físico-químicos são utilizados para aumentar a suscetibilidade do material lignocelulósico ao ataque enzimático. Caracterizam-se pelo tratamento do material em elevadas pressões e temperaturas, e o posterior resfriamento rápido. Entre os pré-tratamentos deste tipo destacam-se:

- ✓ **Explosão a vapor ou auto-hidrólise**: Neste processo o material é tratado em contato com vapor de água saturado, permitindo a solubilização de alguns monômeros e variados polissacarídeos da fração hemicelulósica, a transformação de uma parte da lignina e o aumento da susceptibilidade da celulose a posterior hidrólise.

- ✓ **Explosão por amônia**: Neste caso o material é impregnado ou embebido numa solução de amônia durante o processo, tendo como principio a alta solubilidade de hemiceluloses em ambientes alcalinos. No entanto, há que se destacar que igualmente as hemiceluloses a lignina também tem a sua solubilidade aumentada em meio básico.

- ✓ **Explosão por $CO_2$**: O processo é realizado na presença de $CO_2$, que se transforma no correspondente ácido e incrementa o processo hidrolítico.

No caso dos pré-tratamentos químicos, as características de cada processo são variadas. Alguns desses processos são descritos a seguir:

- ✓ **Hidrólise ácida**: Neste processo são utilizados ácidos como catalisadores do rompimento das ligações entre as frações e suas próprias ligações internas, em condições que variam desde as mais drásticas, para hidrólise de celulose, até moderadas para a solubilização seletiva da fração hemicelulósica.

- ✓ **Ozonólise**: O ozônio é utilizado neste processo para retirar a lignina do material lignocelulósico deixando-o mais acessível ao ataque enzimático.

- ✓ **Hidrólise alcalina**: A presença de álcalis durante o processo de hidrólise permite a saponificação de ligações éster, ocorrentes entre xilanas e entre xilana e lignina, permitindo a extração de uma parte destas frações, ao mesmo tempo em que é reduzida a cristalinidade das fibras.

- ✓ **Deslignificação oxidativa**: Enzimas peroxidases são utilizadas para biodegradar a lignina em presença de $H_2O_2$, aumentando a susceptibilidade das fibras a posteriores processos de hidrólises.

- ✓ **Processo organosolv**: Uma mistura de ácido e solvente orgânico, geralmente etanol, é utilizada neste processo para o rompimento das ligações internas da lignina e a hemicelulose.

Devido ao baixo rendimento na monomerização de hemicelulose quando utilizada a explosão a vapor, usada industrialmente para aumentar a digestibilidade de materiais lignocelulósicos, a hidrólise ácida da fração hemicelulósica apresenta-se como o processo mais promissor para o aproveitamento biotecnológico desta fração, sendo possíveis eficiências de hidrólise superiores aos 95% (FOGEL, 2004). É por essa razão que a hidrólise ácida da hemicelulose, também denominada de pré-tratamento ácido, foi escolhida para o desenvolvimento do presente trabalho, será descrita com maior detalhe na seqüência.

### 2.6.1 Pré-tratamento Ácido

Esta técnica é especialmente útil na separação e solubilização da fração hemicelulósica. Quando realizada com ácidos diluídos, permite igualmente, aumentar a susceptibilidade da celulose a futuros processos de hidrólise sem afetar, notavelmente, sua estrutura base. Essa característica do processo permite a obtenção de hidrolisados com alto conteúdo de xilose em relação a outros glicídeos.

Durante a hidrólise ácida, os catalisadores liberam prótons que clivam as ligações heterocíclicas de éter entre os monômeros das cadeias poliméricas da hemicelulose e, no caso de ácidos concentrados, da celulose. Com a clivagem dos polímeros são liberadas diversas substâncias, sendo majoritária a parecença de xilose, glicose e arabinose. Entre os ácidos utilizados para este tipo de pré-tratamento, encontram-se: $H_2SO_4$, HCl, HF, $CH_3COOH$ e $HNO_3$ (AGUILAR *et al.*, 2002; SUN & CHENG, 2002; CUZENS & MILLER, 1997; RODRÍGUEZ-CHONG *et al.*, 2004).

### 2.6.2 Inibidores do Processo de Fermentação

Como uma desvantagem do processo de hidrólise ácida, cabe destacar a formação de inibidores do crescimento celular e da fermentação de xilose. Por exemplo, a presença de hexoses como manose, galactose e glicose, e/ou de pentoses, pode promover uma diminuição na utilização da xilose, por preferência metabólica por esses glicídeos, ou a inibição das enzimas responsáveis do metabolismo desta pentose. Contudo, o consumo de xilose é restabelecido quando esgotados esses glicídeos fermentáveis (DU PREEZ, *et al.* 1985).

Outros tipos de inibidores podem limitar, e até impedir, o consumo da fonte de carbono e/ou reduzir a cinética de crescimento, prejudicando o desempenho da fermentação. A inibição pode também ser resultado da sinergia entre as várias substâncias presentes no hidrolisado. Entre os inibidores mais comuns tem-se:

Ácido acético: este ácido é gerado a partir dos grupos acetil presentes na estrutura hemicelulósica. Tem-se reportado concentrações de até 16,7 g/L em hidrolisado de bagaço de cana, dependendo das condições nas quais é realizada a hidrólise ácida (PARAJÓ, 1998b). O ácido, na forma não dissociada, pode se difundir ao citoplasma da célula e reduzir o pH intracelular, gerando problemas para a produção de energia e o transporte de diversos nutrientes, aumentando o requerimento energético da célula. A assimilação do ácido pelas leveduras depende, principalmente, de sua concentração e do pH, fatores chave na dissociação do ácido, assim como do nível de aeração do meio. Mecanismos semelhantes de inibição têm sido reportados para o acetaldeído.

Furfural: é um aldeído com natureza aromática formado pela hidrólise de materiais lignocelulósicos que contém pentoses, como o bagaço de cana (GUTIÉRREZ

*et al*., 2002). Este tipo de substância reduz o crescimento celular, a formação de ATP e a produção de etanol (PALMQVIST & HAHN-HÄGERDAL, 2000). Segundo o tipo de microrganismo, pode causar a morte da célula ao interferir com a respiração e a fosforilação oxidativa. Em sua forma reduzida, álcool furfurílico, também gera efeitos inibitórios de menor intensidade (PARAJO, 1998B).

Hidroxi-metil-furfural (HMF): com um mecanismo de ação similar ao descrito para o furfural, o HMF é assimilado em taxas menores tendo o efeito de aumentar a fase lag de crescimento das células. Esta substância é gerada da degradação de hexoses durante o processo da hidrólise (PALMQVIST & HAHN-HÄGERDAL, 2000).

Diferentes processos têm sido propostos para diminuir a concentração de inibidores em hidrolisados hemicelulósicos. Entre os mais conhecidos encontram-se: mudanças de pH com CaO, $Ca(OH)_2$, $H_2SO_4$, utilização de carvão ativo, colunas de troca iônica, precipitação, extração com solventes orgânicos, evaporação, peneiras moleculares, polieletrólitos e até enzimas (OLSSON & HAHN-HÄGERDAL, 1996; POUTANEN *et al*., 1990; HAHN HÄGERDAL *et al*., 1991 e 1998).

Outra estratégia utilizada para minimizar o efeito inibitório refere-se à aclimatação do microrganismo ao meio, utilizando uma metodologia de cultivos sucessivos em meios que contenham gradativamente maiores concentrações de substâncias inibidoras (BETANCUR, 2005). Essa metodologia tem permitido aumentos na concentração de etanol, produtividade e rendimento, em fermentações de resíduos de madeira pela levedura *Pichia stipitis* (NIGAM, 2001). A aclimatação apresenta-se então como uma metodologia que permite prescindir de etapas de desintoxificação que representem custos elevados no processo global de produção de etanol a partir de hidrolisados.

## 2.7 APROVEITAMENTO DE CELULOSE

Para o aproveitamento da fração celulósica é necessária a clivagem da ligação β(1,4)-glicosídica da molécula de celulose. Com isto, podem ser produzidas moléculas, com grau de polimerização menor, afetando as propriedades físico-químicas do meio, pois ao começar a hidrolise enzimática, a celulose é segmentada em celudextrinas de máximo 6 unidades de glicose, estes polissacarídeos ao se solubilizar fazem com que a densidade e a viscosidade da fase líquida varie, influenciando os fenômenos de

transferência de massa. Entre os diferentes tipos de hidrólise distinguem-se a química e a enzimática.

Na química podem ser utilizados meios ácidos ou álcalis, tendo a hidrólise ácida como a mais comum. Em meio ácido a degradação é dependente do pH, sendo necessárias condições severas para uma hidrólise total, seja de alta concentração de ácido com temperatura e pressão moderadas ou concentração moderada de ácido com altas temperatura e pressão. Porém, os processos de hidrólise ácida da celulose geram compostos derivados da glicose (hidroximtilfurfural), que são inibidores microbiológicos, impossibilitando as etapas de bioconversão e fermentação microbiológicas desejadas em processos posteriores, como mencionado anteriormente (BADGER, 2002; D´ALMEIDA, 1988).

A hidrólise enzimática de celulose só é possível pela ação de um conjunto de enzimas denominadas celulases que clivam as ligações β(1,4) da celulose e podem ser produzida por uma ampla gama de fungos. As celulases são enzimas que atuam sinergicamente como um sistema multicomponente na degradação do homopolímero, sob condições brandas de pressão, temperatura e pH, e com uma especificidade que elimina a possibilidade de formação dos tóxicos que dificultam os processos subseqüentes (LYND et al., 2005, LYND et al., 2002; BHAT & BHAT, 1997).

O consórcio enzimático utilizado na hidrólise da celulose é denominado complexo celulásico, e as enzimas constituintes podem ser classificadas como Endoglucanases, Exoglucanases e ß-glucosidases, segundo suas características de atuação no substrato celulósico, (LYND et al., 2002; HENRISSAT, 1991).

As endoglucanases (nome sistemático, segundo a IUBMB - International Union of Biochemistry and Molecular Biology - 1,4-ß-D-glucana-4-glucanoidrolases) também podem ser referenciadas na literatura como endo-1,4-ß-D-glucanases, ß-1,4-glucanases, ß-1,4-endoglucana hidrolases, álcali celulases e celodextrinases. Tais enzimas clivam randomicamente as regiões internas da estrutura amorfa da fibra celulósica, liberando como produtos, oligossacarídeos de diversos graus de polimerização e, conseqüentemente, novos terminais, sendo um redutor e outro não redutor (LYND et al., 2002). As endoglucanases são as enzimas responsáveis pela rápida solubilização do

polímero celulósico (redução do grau de polimerização), devido à sua fragmentação em oligossacarídeos (KLEMAN-LEYER et al., 1996).

O grupo das exoglucanases é constituído pelas celobiohidrolases (CBHs) e pelas glucanohidrolases (GHs). As GHs (nome sistemático 1,4-ß-D-glucana-glucanohidrolases) também podem ser denominadas exo-1,4-ß-glucosidases, exocelulases, exo-ß-1,4-glucosidases, exo-ß-1,4-glucanases, ß-1,4-ß-glucanases e exo-1,4-ß-glucanase. Estas enzimas, embora pouco reportadas, possuem característica de hidrolisar as fibras liberando glicose diretamente dos terminais do polímero (LYND et al., 2002). As CBHs (nome sistemático 1,4-ß-D-glucana-celobiohidrolases) são também conhecidas como exo-celobiohidrolases, ß-1,4-glucana celobiohidrolases, ß-1,4-glucana celobiosilhidrolases, 1,4-ß-glucana celobiosidases, exoglucanases, avicelases, C1 celulases, exo-ß-1,4-glucana celobiohidrolases e celobiosidases. Estas enzimas participam da hidrólise primária da fibra, sendo responsáveis pela amorfogênese, que é um fenômeno ainda não elucidado completamente. Porém, sabe-se que envolve uma ruptura física do substrato, ocasionando uma desestratificação das fibras pelo aumento das regiões intersticiais. A amorfogênese promove aumentos na taxa de hidrólise da celulose, por tornar as regiões cristalinas mais expostas ao processo de hidrólise enzimática (ZHANG & LYND, 2004; LYND et al., 2002). Essas enzimas geralmente sofrem inibição pelo seu produto de hidrólise (celobiose) (AWAFO, 1997; LAUREANO-PEREZ et al., 2005).

As enzimas ß-glucosidases englobam as enzimas ß-glucosidásicas, ou ß-glucosídeo glucohidrolases (nome sistemático). Outras denominações podem ser gentiobiase, celobiase, emulsina, elaterase, aril-ß-glucosidase, ß-D-glucosidase, ß-glicosídeo glucohidrolase, arbutinase, amigdalinase, p-nitrofenil ß-glucosidase, primeverosidase, amigdalase, limarase e salicilinase (LYND et al., 2005; LAUREANO-PEREZ et al., 2005). As ß-glucosidases têm a capacidade de hidrolisar celobiose e oligossacarídeos solúveis (GP<7) à glicose. Assim como as celobioidrolases, estas também são reportadas por sofrerem inibição por seu produto de hidrólise (AWAFO, 1997), com algumas exceções (RIOU et al., 1998).

## 2.8 FERMENTAÇÃO DE HIDROLISADOS HEMICELULÓSICOS

A conversão estequiométrica de xilose em etanol, esboçada na Figura 2.20, indica que para cada 3 moles de xilose podem se produzir como máximo teórico 5 moles de etanol, acompanhado do desprendimento do mesmo número de moles de $CO_2$. Em outras palavras, o rendimento máximo teórico do processo é de 0,51 g de etanol por cada 1,00 g de xilose. Na realidade, este rendimento não pode ser alcançado porque parte do substrato é desviado para o crescimento e manutenção da célula e para formação de outros subprodutos intrínsecos ao metabolismo.

$$\underset{1g}{3\ C_5H_{10}O_5} \Rightarrow \underset{0,51g}{5\ C_2H_5OH} + \underset{0,489g}{5\ CO_2}$$

Figura 2.20: Reação Global de Conversão de D-xilose a Etanol

A D-xilose pode ser utilizada como substrato potencial por diferentes tipos de microrganismos, tais como, bactérias, fungos filamentosos e leveduras. As bactérias degradadoras de D-xilose possuem a enzima xilose-isomerase capaz de converter essa pentose em D-xilulose, que é posteriormente fosforilada pela enzima xiluloquinase em D-xilulose-5-fosfato, um intermediário comum no metabolismo de células eucarióticas e procarióticas.

No caso de leveduras, a primeira reação do metabolismo da D-xilose (Figura 2.21) é a redução da D-xilose em xilitol, catalisada pela enzima xilose reductase (XR) dependente de coenzimas NADPH ou NADH, segundo a linhagem. O xilitol pode ser, posteriormente, oxidado a D-xilulose pela ação da enzima xilitol desidrogenase (XDH) que requer a coenzima NAD+. Subseqüentemente, a fosforilação até D-xilulose-5-fosfato é catalisada pela enzima xilulose quinase com o consumo de ATP.

Através da via Embdem-Meyerhof-Parnas, o gliceraldeído-3-fosfato e a frutose-6-fosfato são convertidos em piruvato, com geração de NADPH necessário em outras etapas metabólicas. Em condições anaeróbias, ou de baixa oxigenação, o piruvato é convertido em etanol através da catálise com duas enzimas (piruvato decarboxilase e álcool desidrogenase) e a reoxidação de NADH. Em condições de aerobiose o piruvato

é oxidado através do ciclo dos ácidos tricarboxílicos (Krebs) na cadeia respiratória (fosforilação oxidativa) (BRITO, 2000; BRÜINENBERG et al., 1984).

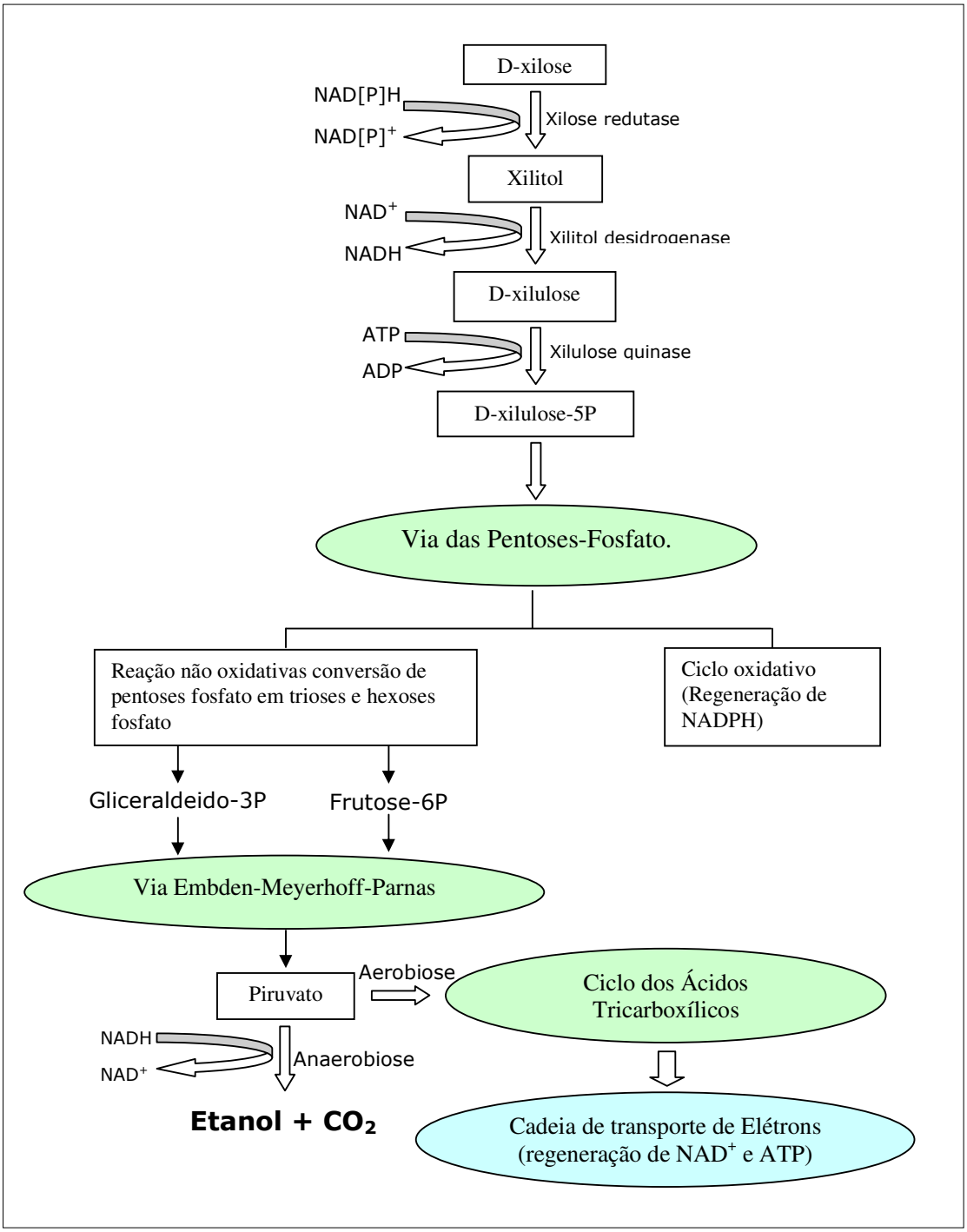



Figura 2.21: Metabolismo de D-xilose em Leveduras
Fonte: Adaptado de PARAJO (1998[A])

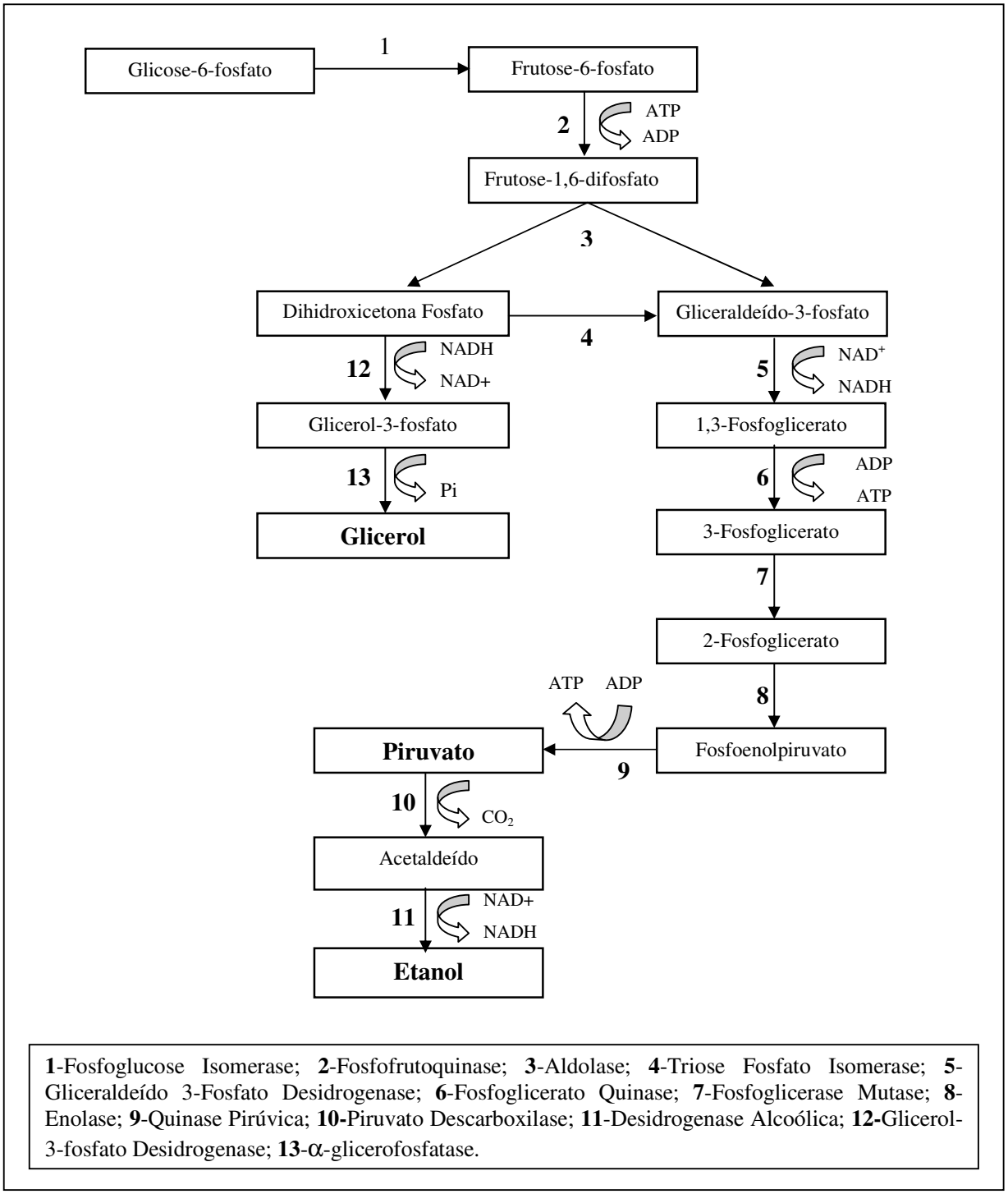
Sob condições de anaerobiose estrita ou de limitação de oxigênio, algumas leveduras degradadoras de D-Xilose, com XR dependente tanto de NADH como de NADPH, podem regenerar o $NAD^+$ consumido na segunda reação do metabolismo. Esta dupla especificidade permite balancear o potencial redox em $NAD^+$/NADH da XDH alterado pelo bloqueio da cadeia respiratória devida à ausência de oxigênio. Nestes casos, como exemplo a levedura *Pichia stipitis*, tem-se maior produção de etanol com um acúmulo de xilitol desprezível (MUSSATO & ROBERTO, 2002). A dupla especificidade da levedura *Pichia stipitis* também foi observada por SÁ (1993); ANTUNES (1997) e LEAL (1998).

Apresentam-se então as enzimas XR e XDH como catalisadores chave no metabolismo de xilose, sendo altamente dependentes de co-enzimas cuja regeneração está ligada ao processo respiratório celular. Desta forma, é importante determinar um nível de oxigênio que permita altas taxas de produção de etanol, concomitante, com baixo crescimento celular, sem prejuízo da viabilidade e capacidade produtora da célula.

## 2.9 FERMENTAÇÃO DO HIDROLISADO CELULÓSICO

A glicólise (Figura 2.22) é uma via central e quase universal do catabolismo da glicose. É a via através do qual, na maioria das células, ocorre o maior fluxo de carbono. Em certos tecidos e tipos celulares de mamíferos, a glicose, a partir da glicólise, é a principal ou mesmo a única fonte de energia metabólica. Muitos microrganismos anaeróbicos são inteiramente dependentes desta via.

Na glicólise, uma molécula de glicose é degradada em uma série de reações catalisadas por enzimas para produzir duas moléculas de piruvato. Aliás, todas as enzimas da glicólise de muitos organismos já foram cuidadosamente purificadas, estudadas e tiveram suas estruturas tridimensionais determinadas a partir de estudos cristalográficos com raios-X. Durante as reações seqüenciais, parte da energia livre da glicose é conservada na forma de ATP. O processo da glicólise difere de uma espécie para outra apenas em detalhes de sua regulação e no destino subsequente do piruvato formado. Os princípios termodinâmicos e os tipos de mecanismos reguladores glicolíticos são encontrados em todas as vias do metabolismo celular.




**1**-Fosfoglucose Isomerase; **2**-Fosfofrutoquinase; **3**-Aldolase; **4**-Triose Fosfato Isomerase; **5**-Gliceraldeído 3-Fosfato Desidrogenase; **6**-Fosfoglicerato Quinase; **7**-Fosfoglicerase Mutase; **8**-Enolase; **9**-Quinase Pirúvica; **10-**Piruvato Descarboxilase; **11**-Desidrogenase Alcoólica; **12-**Glicerol-3-fosfato Desidrogenase; **13**-α-glicerofosfatase.

Figura 2.22. Via glicolítica, Biossíntese de glicerol e conversão do piruvato a etanol.
Fonte: Barre et al., (2000).

A glicose é uma molécula com seis átomos de carbono e sua divisão em duas moléculas de piruvato, cada uma com três átomos de carbono, ocorre em uma seqüência de 10 etapas durante o metabolismo celular. Nessas reações, a glicose é inicialmente fosforilada no grupo hidroxila do C-6 (carbono 6). A D-glicose-6-fosfato assim formada é convertida em frutose-6-fosfato, a qual é novamente fosforilada, desta vez em C-1, para produzir D-frutose-1,6-difosfato (Como todos os derivados dos açúcares que ocorrem na via glicolítica são isômeros D, omitiu-se a designação D, exceto quando precisa-se enfatizar a estereoquímica). O ATP é a molécula que proporciona o fosfato nas duas fosforilações. A seguir, a frutose-1,6-difosfato é quebrada para produzir duas moléculas com três carbonos cada, a diidroxiacetona-fostato e o gliceraldeído-3-fosfato. Este é o passo em que ocorre a quebra ("lisys") que dá nome ao processo. A diidroxiacetona-fosfato é isomerizada em uma segunda molécula de gliceraldeído-3-fosfato e com isso termina a primeira fase da glicólise. Note que duas moléculas de ATP precisam ser inseridas para ativar, ou iniciar, a molécula de glicose para a sua quebra em duas partes com três carbonos.

O ganho energético provém subseqüente a fase da glicólise. Cada molécula de gliceraldeído-3-fosfato é oxidada e fosforilada por fosfato inorgânico (não pelo ATP) para formar 1,3-difosfoglicerato. A liberação de energia ocorre quando as duas moléculas de 1,3-difosfoglicerato são convertidas em duas moléculas de piruvato. A maior parte dessa energia é conservada pela fosforilação acoplada de quatro moléculas de ADP para ATP. Em resumo, são obtidas duas moléculas de ATP por molécula de glicose empregada, uma vez que foram inserido 2 ATP na fase inicial da glicose. Alguns microorganismos em anaerobiose produzem etanol através da fermentação alcoólica utilizando o piruvato formado na via glicolítica.

## 2.10 BIOCOMBUSTÍVEIS NO CONTEXTO DA BIORREFINARIA

A importância do setor agroindustrial e florestal junto à instabilidade dos preços do petróleo fazem que a biomassa se projete como um recurso produtivo. Neste sentido as biorrefinarias constituem uma nova oportunidade para o setor das biomassas e poderiam fomentar novas fontes de negócios e produtos (PEREIRA Jr., 2006).

Especialistas acreditam que as biorrefinarias possam vir a se constituir em uma indústria-chave do século XXI, responsável até mesmo por uma nova revolução industrial, em virtude da importância das tecnologias que empregam e dos efeitos sobre o paradigma industrial (COPYRIGHT POWER, 2007).

Uma biorrefinaria é um complexo industrial, no qual se integram processos de conversão de resíduos florestais ou agrícolas, para a produção de combustíveis, energia, produtos químicos e materiais de interesse no mercado industrial. O conceito é análogo ao das atuais refinarias de petróleo, as quais a partir do petróleo cru conseguem elaborar uma variedade de produtos químicos. (BERG, 2006) afirma que no futuro vão se estabelecer novos empregos para a biomassa agroindustrial, tais como combustíveis padronizados, sejam estes sólidos, líquidos ou gasosos; e serão produzidos novos materiais, com novas propriedades e uma excelente competitividade no mercado. Esta é a razão pela qual se acredita firmemente no potencial da biomassa como matéria-prima cada vez mais importante.

A rota das biorrefinarias está associada ao desenvolvimento da tecnologia de materiais lignocelulósicos, uma técnica em desenvolvimento no mundo, especialmente nos países mais desenvolvidos, com o objetivo de produzir etanol de resíduos e produtos agroindustriais, como o bagaço e a palha de cana, bagaço de dendê, o sabugo de milho, alguns tipos de capim e outras matérias-primas vegetais. Segundo o trabalho do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES), esses compostos orgânicos, hoje praticamente sem valor comercial, correspondem a cerca de 50% da biomassa terrestre.

Os esforços para aumentar a competitividade dos combustíveis de base biológica estão fazendo surgir nos EUA um novo modelo de planta de refino, as biorrefinarias. Com operação semelhante à das refinarias tradicionais de petróleo, com a diferença que sua matriz energética é a biomassa e não o petróleo, as biorrefinarias processam diferentes tipos de biomassa e geram uma ampla gama de combustíveis e produtos de base biológica (PEREIRA Jr., 2006; TIDEI, 2002).

Relatório recentemente elaborado pelo Conselho Nacional de Pesquisa do governo norte-americano considera as biorrefinarias fundamentais para tornar os combustíveis e demais produtos de base biológica mais competitivos em relação a seus

equivalentes de base fóssil. Tanto que esses empreendimentos deverão receber subvenção governamental da ordem de US$ 15 milhões por ano, durante cinco anos, para a comercialização de tecnologias de biorrefino (PEREIRA Jr., 2006, TIDEI, 2002).

Enquanto que as refinarias de petróleo são substituídas, a sociedade e o ambiente irão se beneficiando pelo câmbio de matéria-prima proveniente de hidrocarbonetos a carboidratos renováveis como fonte de energia, novos materiais e produção de químicos. As tecnologias de etanol baseadas em biomassa estão desenvolvendo-se rapidamente, embora alguns obstáculos tenham sido identificados e necessitem ser superados para conseguir uma comercialização ampla e generalizada. As pesquisas atuais estão sendo incentivadas pela necessidade de reduzir o custo do etanol a partir de biomassa. O método mais empregado é o pré-tratamento termoquímico do material lignocelulósico, seguido pela hidrólise enzimática do material a açúcares fermentáveis, que logo podem ser convertidos em etanol. As pesquisas sobre pré-tratamentos se concentram na elaboração de processos que possam ajudar na redução do tempo de bioconversão, na diminuição do emprego de carga enzimática e no aumento dos rendimentos de etanol (KNAUF & MONIRUZZAMAN, 2004).

Os esforços das pesquisas em preparados enzimáticos estão concentrados no desenvolvimento de uma mescla sinérgica de enzimas que seja economicamente viável e altamente termoestáveis, que satisfarão as necessidades dos usuários finais.

As pesquisas integradas e o enfoque sobre o desenvolvimento de tecnologias para a produção de biodiesel e etanol dentro do conceito de biorrefinaria têm dado resultado, e as plantas comerciais para a produção de etanol a partir de biomassas estão por se converter em realidade (KNAUF & MONIRUZZAMAN, 2004). O Brasil, com uma trajetória de trinta anos na produção de etanol como combustível, possui iniciativas nacionais que contemplam o desenvolvimento de novas tecnologias de produção de etanol com base em biomassa; estes resíduos lignocelulósicos provirem da produção do etanol o da produção de açúcar de cana-de-açúcar ou do bagaço de dendê. A instalação de biorrefinarias, dentro de um enfoque e de uma estratégia própria, decorrente da especificidade do bagaço de cana-de-açúcar ou dendê em termos de custo e balanço energético positivo, é outra das iniciativas nacionais para o desenvolvimento de tecnologias para a produção de etanol a partir de biomassas, integrando assim processo

de produção de etanol com processos de produção de biodiesel conforme notamos na Figura 2.23.

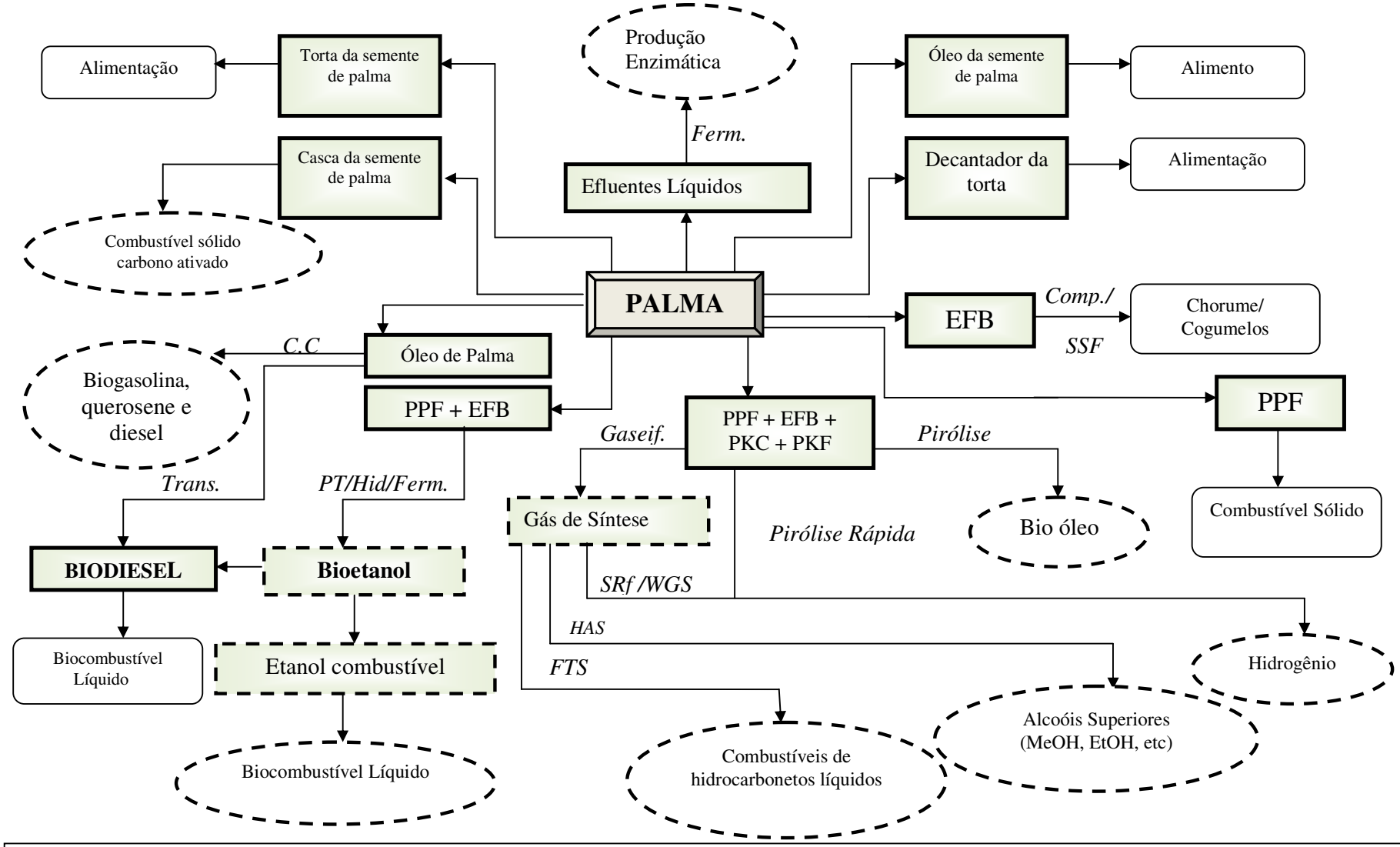



Figura 2.23. Produtos, Subprodutos e Resíduos Obtidos Durante O Processamento de Óleo de Palma. Formulários com Bordas Contínuas Correspondem às Atuais Aplicações de Produtos e Subprodutos. Formulários com Bordas Tracejadas Correspondem a Aplicações Potenciais.. **Gasf**: Gaseificação, **Pyr**: Pirólise, **Fpyr**: Pirólise Rápida, Comp.: Compostagem, **SSF**: Sacarificação e Fermentação Simultâneas, **SRf**: Reforma a Vapor, **WGS**: Reação de Deslocamento Gás-Água, **FTS**: Síntese Fischer-Tropsch, **PT**: Pré-Tratamento, **CH**: Hidrólise de Celulose, **Fm**: Fermentação, **Trans**: Transesterificação, **CC**: Craqueamento Catalítico, **HAS**: Síntese Álcool Superior.

Gutiérrez *et.al.*, 2009

## 2.11 A IMPORTÂNCIA DA ROTA ETÍLICA

O biodiesel, utilizado em vários países da Europa e nos Estados Unidos, são ésteres produzidos pela rota metílica. O metanol, também chamado de álcool metílico é um álcool geralmente obtido de fontes fósseis não-renováveis. Ele é normalmente encontrado como subproduto da indústria do petróleo. Entretanto, o metanol, em quantidades menores, pode ser obtido por destilação seca da madeira e gás de síntese. (LIMA, 2004).

Sabe-se que a tecnologia de produção de biodiesel pela rota metílica é totalmente dominada, o que não se pode dizer a respeito da rota etílica que ainda possui seus entraves.

Contudo, o etanol tem propriedades combustíveis e energéticas similares ao metanol. Além disso, o etanol apresenta a vantagem de não ser tóxico e de ser biodegradável ao contrário do metanol que, por sua vez, tem uma toxicidade elevada, trazendo malefícios à saúde, podendo causar, inclusive, cegueira e câncer. O metanol também apresenta maiores riscos de incêndio e produz chama invisível, fatos, que o tornam proibitivo para uso em pequenas escalas de produção (RAMOS, 2009).

O etanol é de origem renovável, com produção nacional baseada em uma agro-indústria consolidada e muito bem distribuída, cujas propriedades são bem mais compatíveis com a produção de biodiesel em pequena ou média escala desde que haja solução tecnológica para os problemas inerentes à sua utilização. Além disto, a opção pelos ésteres etílicos resulta em biodiesel de melhores propriedades, amplia suas eventuais aplicações de mercado e oferece uma série de benefícios sócio-ambientais que podem atuar como elementos indutores em um mercado cada vez mais ávido por soluções ambientalmente corretas em toda a cadeia de produção (RAMOS, 2009).

Contudo, ainda há uma série de questionamentos com relação à produção de biodiesel pela rota etílica e há uma série de trabalhos em desenvolvimento.

Existe tecnologia de produção de biodiesel a partir de etanol como descrita por uma patente (PI 0403140-7), que pertence hoje a Petrobio Biodiesel e que foi adquirida da MB do Brasil Biodiesel, empresas de Piracicaba e Ribeirão Preto respectivamente, todas no interior de São Paulo. A patente foi criada completamente por químicos brasileiros e hoje é um processo que tem condições de fabricar biodiesel com etanol, de maneira econômica, prática e com boa qualidade e disponível nas linhas industriais

"batelada", "semicontínuas" e "contínuas" cobrindo assim todo o universo de potenciais produtores do biocombustível além de aceitar o tradicional metanol, tornando "TOTAL FLEX" a fabricação do biodiesel (aceita qualquer álcool). Assim como a Petrobio, a empresa Fertibom, em Catanduva – SP também utiliza a rota etílica de produção de biodiesel.

Convém salientar, que embora o metanol seja a tecnologia que prevaleça como opção mais imediata, a opção pela produção de biodiesel utilizando o etanol deve ser considerada como estratégica e de alta prioridade para o país. Isso pode ser atribuído a diversas razões tais como as implicações ambientais, econômicas, políticas, sociais e produzir um insumo a partir de resíduos do próprio processo.

## 2.12 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O Brasil apresenta um grande potencial para a produção de biodiesel, por possuir uma grande extensão territorial (é o quinto maior país do mundo) e grande diversidade de climas, permitindo o cultivo de uma maior variedade de espécies oleaginosas produtoras. A capacidade instalada de processamento da indústria de óleos vegetais é de cerca de 40 milhões de toneladas de grãos, dos quais cerca de 25% (10 milhões de toneladas) representam capacidade ociosa. Assim, o uso de parte desta capacidade ociosa pode contribuir na produção de biodiesel para, quem sabe, levar a uma substituição de diesel importado por biodiesel nacional.

Investimentos altíssimos têm sido feitos pela indústria do petróleo, buscando novas reservas, tanto em terra quanto em mar. Estes investimentos poderão ter custos tais que tornem economicamente inviável a extração do petróleo encontrado, caso o seu preço não compense o investimento necessário. Para o biodiesel, pode-se investir no cultivo das oleaginosas, de modo a aumentar sua produtividade, sem haver o problema da viabilidade econômica anteriormente citado. Anualmente, o Brasil consome cerca de 36 bilhões de litros de diesel, com importação de uma parcela da ordem de 20% (SITE AMBIENTE BRASIL, 2007). Pelo menos estas importações de diesel, a curto prazo, podem ser substituídas pelo biodiesel.

Em 2003 e 2004, o Brasil importou 3 bilhões de litros de diesel. Com a tendência de queda da oferta e aumento do consumo, o preço do petróleo e de seus derivados tende a aumentar. Uma estratégia para substituição deste diesel de petróleo

por biodiesel foi proposta por (MONTEIRO Jr., 2005), abordando este tema e suas possíveis conseqüências. Foram propostos, neste trabalho, a utilização de B30 (mistura com 30% em volume de biodiesel e 70% de diesel) para geração de energia elétrica na Amazônia, o uso de B20 no transporte rodoviário coletivo urbano e o uso de B35 em máquinas agrícolas. Por ano, estas propostas, se bem implementadas, podem gerar uma substituição anual de 1,35 bilhão de litros de diesel por biodiesel: 400 milhões de litros na primeira, 500 milhões de litros na segunda e 450 milhões de litros na terceira. Esta substituição pode representar uma grande economia para o país.

De acordo com (BENDER, 1999), o cenário econômico do biodiesel é volátil, devido aos grandes efeitos causados pela matéria-prima utilizada na sua produção. Também podem ser apreciáveis os efeitos de custos de capital (montagem da fábrica), os gastos de energia e o valor agregado dos co-produtos. Estes fatores tornam extremamente complexo um cálculo para a viabilidade econômica de uma fábrica.

HAAS *et al.* (2006) propuseram um modelo tendo como matéria-prima óleos de soja não-refinados. Os autores reportaram um alto impacto do preço dos óleos, representando cerca de 88% do custo do produto final. O glicerol produzido apresenta impacto muito menor sobre o custo final que o do óleo (diminuição de 6% no custo), por ser um co-produto. Entretanto, essa redução pode agregar valor ao projeto. Este modelo desenvolvido pode ser ajustado a variações de valor de matérias-primas ou de produtos, bem como de rotas tecnológicas.

# CAPÍTULO 3

# OBJETIVOS

## 3.1 GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi estabelecer uma metodologia para produção de biodiesel pela esterificação etílica da borra ácida de palma, propondo um processo integrado no qual o etanol é obtido do bagaço residual de dendê por via biotecnológica segundo os princípios do conceito de biorefinaria.

## 3.2 ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar o melhor catalisador para a esterificação alcoólica homogênea da borra ácida de palma;
- ✓ Explorar as condições de pré-tratamento ácido para extração da fração hemicelulósica do bagaço de dendê, visando obtenção de hidrolisados com alto conteúdo de xilose;
- ✓ Avaliar a fermentabilidade de hidrolisados hemicelulósicos obtidos sob diferentes condições;
- ✓ Estabelecer condições preliminares de deslignificação para adequação da celulignina a processos de hidrólise enzimática;
- ✓ Avaliar o potencial da celulignina para a produção de etanol mediante processo SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*);
- ✓ Determinar as cargas mássicas para o processo integrado de produção de biodiesel por esterificação alcoólica a partir dos resultados experimentais.

# CAPÍTULO 4

# MATERIAIS E MÉTODOS

Neste Capítulo, serão descritos os materiais utilizados para o desenvolvimento da pesquisa, assim como as diferentes metodologias aplicadas nos experimentos realizados. Foram estabelecidos: as condições e metodologia para obtenção do hidrolisado, manutenção e manipulação do microrganismo utilizado, características dos processos de fermentação, assim como a metodologia analítica empregada. O planejamento experimental com as condições reacionais utilizadas.

## 4.1 PROCEDÊNCIA DA BORRA ÁCIDA

O processo global de extração do óleo das sementes de dendê usando como matéria-prima os cachos de frutos frescos (FFB), do óleo de palma é ilustrado na Figura. 4.1. FFB são cozidos em uma autoclave de contato direto usando vapor saturado. Este operação favorece a remoção dos frutos de cachos e prepara a polpa para uma maior extração de óleo. A remoção dos frutos é geralmente efetuada em tambor rotativo threshers automaticamente. Os frutos passam por uma digestão em tanques cilíndrico verticais com agitação a 100º C. Nesta etapa, o mashing de frutos ocorre levando à separação da polpa das nozes (OBSERVATÓRIO AGROCADENAS COLÔMBIA, 2006). Os frutos misturados são enviados a uma prensa parafuso onde o óleo bruto é separado da torta. O óleo é passado através de peneiras vibratórias para remover os sólidos finos. Em seguida, o óleo é purificado em decantadores onde é adicionada água quente a 90º C para acelerar o processo. Nesta etapa, uma torta decantada é obtida. O lodo do decantador é centrifugado para recuperar óleo e enviá-lo para a etapa de tratamento de efluente. O óleo purificado contém cerca de 1% de água. Por esta razão, é

desidratado em um secador a vácuo e enviado para os tanques de armazenamento de óleo. A torta prensada é direcionada a um ciclone onde a separação das amêndoas e da fibra prensada de palma (PPF) ocorre. As amêndoas são quebradas para separar a amêndoa da casca da amêndoa da palma (PKS). As amêndoas passam por um processo de moagem para extrair o óleo da amêndoa da palma (PKO) obtendo também a torta da amêndoa da palma (PKC).

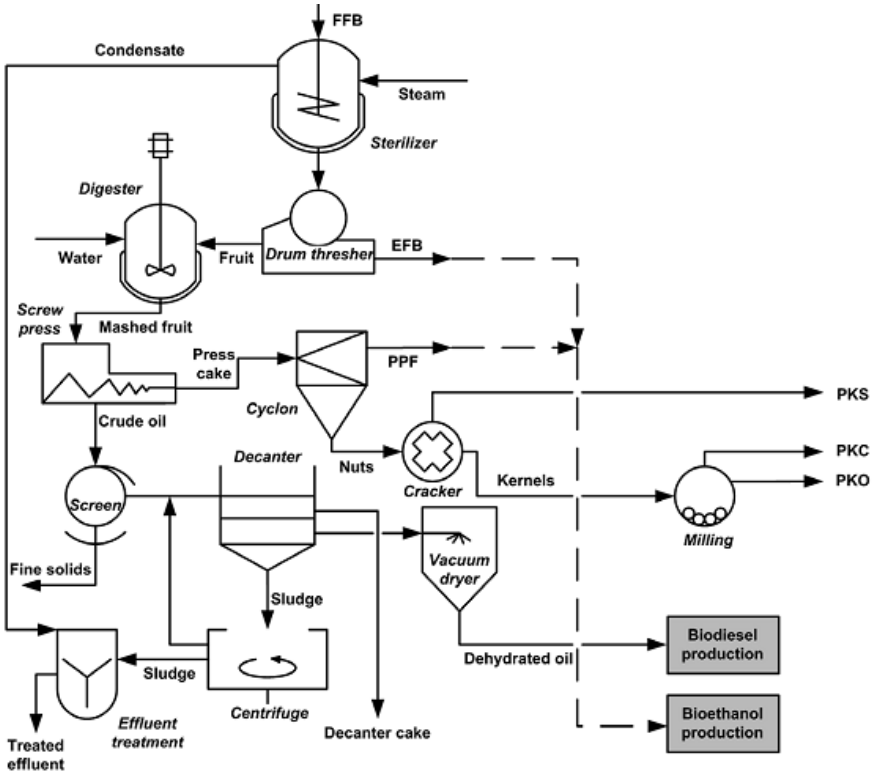



Figura 4.1: Esquema de Extração de Óleo de Palma. FFB: Cachos de Frutas Frescas, EFB: Cachos das Frutas Vazio, PPF: Fibra Prensada de Palma, PKS: Casca da Amêndoa da Palma, PKC: Torta da Amêndoa da Palma, PKO: Óleo da Amêndoa de Dendê (GUTIÉRREZ, *et al*., 2009).

## 4.2 PRODUÇÃO DE BIODIESEL

### 4.2.1 Esterificação Homogênea

Para a produção do biodiesel em questão foi utilizado como matéria-prima o ácido graxo de palma, cedido pela empresa AGROPALMA S.A. e conhecido também

como borra ácida. O ácido graxo de palma é um sub-produto do processo de refino do óleo de palma. Na realidade, trata-se de uma mistura de ácidos orgânicos, com uma composição aproximada de ácido palmítico: 46,4%; ácido oléico: 41,2%; ácido linoleico: 11,1%, ácido láurico: 1,2% e ácido mirístico: 0,1%.

A reação escolhida foi a esterificação, ou seja, a reação dos ácidos graxos com álcool, neste caso, etanol e metanol. A reação de esterificação difere da transesterificação por partir de ácidos graxos livres, ao invés de triglicerídeos, o que a torna mais vantajosa devido à possibilidade do uso de resíduos (borra ácida) e a não formação de glicerol.

O reator PARR 4842, utilizado nos experimentos, é do tipo autoclave, feito em aço inox, com volume útil de 600 ml e pressão máxima de trabalho de 10.000 psi. Possui tubo para retirada de amostras, bem como sistema de agitação e manta externa para aquecimento.

Foi utilizado um excesso de álcool a fim de deslocar o equilíbrio para um máximo rendimento de éster. A razão molar metanol, etanol/ácido graxo utilizada foi igual a 3.

Foram testados diferentes catalisadores homogêneos e seus resultados comparados com ensaios realizados na ausência de catalisador. A escolha dos catalisadores se deu devido às suas grandes disponibilidades e seus baixos custos. Dentre os catalisadores homogêneos utilizados estão o ácido sulfúrico ($H_2SO_4$), ácido fosfórico ($H_3PO_4$), ácido tricloroacético ($Cl_3C$-COOH) e ácido metanosulfônico ($H_3C$-$SO_3H$)

A concentração dos catalisadores escolhida foi de 0,1% em relação ao reagente limitante (ácido graxo). Além disso, foi feito um estudo de variação da quantidade de catalisador (0,1 e 1% em massa, em relação ao ácido graxo) para o catalisador ácido metanosulfônico. A agitação foi constante e igual a 500 rpm. Foram utilizados, em cada experimento, 307 g de ácido graxo (de peso molecular aproximado 250 g/gmol), 149 ml de metanol ou 215 mL de etanol e a quantidade de catalisador correspondente a cada teor acima mencionado.

Para avaliar o efeito da presença de água no meio reacional, foram feitos ensaios utilizando-se etanol comercial hidratado (aproximadamente 4% de água), sem

catalisador e ensaios com o catalisador ácido homogêneo ácido metanosulfônico, que apresentou melhor resultado quando feitas as reações em meio anidro.

A mistura reacional foi introduzida no reator junto com o catalisador (quando presente). O tempo de reação se iniciava quando a temperatura do reator atingia 130ºC.

Em períodos determinados (5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60 minutos), foram retiradas alíquotas para análise. Também foi feito um branco, equivalente aos reagentes não-reagidos. Foi realizada a análise de índice de acidez, que indica o teor de ácidos livres. Com os valores desse índice, era possível determinar a conversão da reação.

O índice de acidez foi obtido por titulação da amostra obtida contra uma solução de NaOH (0,25 N). Pesando-se 7,05 gramas de uma amostra, o volume gasto (em mL) desta solução de NaOH é exatamente igual ao valor do índice de acidez (em %).

## 4.3. PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DO RESÍDUO LIGNOCELULÓSICO

### 4.3.1 Pré-tratamento ácido para extração de hemicelulose

O bagaço de dendê, fornecido pela AGROPALMA, inicialmente, foi submetido a secagem a 60ºC, com o intuito de garantir uma estocagem sem perigo de contaminação com fungos. Este processo de secagem é utilizado como uma etapa prática no trabalho de laboratório, sem ter que ser obrigatória para o aproveitamento do material lignocelulósico em uma escala industrial.

Para pré-tratamento ácido do bagaço de dendê foram estudadas a concentração de ácido sulfúrico, o tempo e a temperatura. Para isto, construiu-se um delineamento central composto com cinco réplicas do ponto central. Os níveis escolhidos para cada variável são apresentados na Tabela 4.1, e a matriz total de experimentos pode ser observada no Capítulo de resultados (Tabela 5.3) contendo um total de 13 corridas. Como variável de resposta para esta otimização foi escolhida a concentração de xilose no hidrolisado. As condições escolhidas foram determinadas a partir de trabalhos desenvolvidos no Laboratório de Desenvolvimento de Bioprocessos para bagaço de cana-de-açúcar (FOGEL, 2004). O processo foi realizado em um reator PARR 4842 com volume útil de 300 mL. (Figura 4.2), para os processos com pouca demanda de hidrolisado, e em reator de 600mL nos caos de maiores volumes de hidrolisado.

Tabela 4.1: Condições Estudadas para a Hidrólise Ácida do Bagaço.

| Variável | Limite Inferior | Limite Superior |
|---|---|---|
| Temperatura (ºC) | 120 | 200 |
| Tempo (min.) | 6 | 30 |
| Conc. do ácido (%v/v) | 0,15 | 0,75 |

Figura 4.2: Reator PARR Modelo 4842 Utilizado para a Realização das Reações de Tratamento Térmico Ácido e Reações de Esterificação.

Após o pré-tratamento, o hidrolisado, licor resultante deste processo, foi separado utilizando uma prensa hidráulica e seu pH foi corrigido até 6,0 mediante a adição de $Ca(OH)_2$. Após alcançar o valor de pH mencionado anteriormente, a solução foi filtrada a vácuo, para retirar o precipitado formado, e estocada, apropriadamente, para ser utilizada como base do meio de fermentação.

Adicionalmente, foi realizado pré-tratamento ácido em autoclave nas condições: relação sólido: líquido (1:4), Concentração de ácido sulfúrico (0,75%v/v), Tempo: 40 min, Pressão: 1atm (121ºC).

### 4.3.2 Processos de Deslignificação e Pré-Hidrolise Enzimática de Celulignina.

A celulignina é o subproduto da hidrólise ácida aplicada em condições brandas sobre o bagaço de dendê para a extração dos açúcares da fração hemicelulósica (BETANCUR, 2005). A fração sólida resultante, celulignina, está composta basicamente por celulose e lignina residual do processo de hidrólise ácida.

Em geral, a maioria dos métodos de deslignificação reportados na literatura propõem tratamentos alcalinos, acompanhados ou não, de um tratamento térmico (PAPATHEOFANUS *et al*., 1995; MENEZES E AGUIAR, 2002; ERIKSSON *et al*., 2002; SEWALT *et al*., 1997). Os pré-tratamentos de deslignificação avaliados neste trabalho estão especificados na Tabela 4.2. Depois do processo de deslignificação, a celulignina pré-tratada foi lavada até alcançar um pH de 5,5, e finalmente seca a 50ºC por um período de 24 horas.

Tabela 4.2: Processos de deslignificação aplicados sobre a celulignina

| CODIGO | PRÉ - TRATAMENTO |
|---|---|
| A | NaOH 1% p/p - relação sólido:líquido 1:20 (g celulignina:mL de solução álcali) - 30 min – 1 atm. |
| B | NaOH 4% p/p - relação sólido:líquido 1:20 (g celulignina:mL de solução álcali) - 30 min – 1 atm. |

### 4.3.3 Microrganismos

Para todos os experimentos de fermentação dos açúcares provenientes da fração hemicelulósica utilizou-se a linhagem floculante da levedura *Pichia stipitis* CBS5774, proveniente do banco de linhagens holandês "Central Bureau voor Schimmelcultures-CBS". Esta levedura foi previamente catalogada como o microrganismo mais adequado para conversão de D-xilose a etanol (PEREIRA Jr., 1991).

Todos os experimentos de fermentação dos açúcares provenientes da fração celulósica foram realizados utilizando levedura comercial *Fleischmann (Saccharomyces cerevisiae)*, empregada no processo de panificação.

### 4.3.4. Meios Empregados para Ativação, Propagação e Fermentação.

MEIO DE ATIVAÇÃO

O meio utilizado para ativação das células (primeira etapa de crescimento) foi o mesmo empregado por (PEREIRA Jr., 1991) e sua composição está apresentada na Tabela 4.3.

Com intuito de evitar reações indesejadas entre a xilose e outros componentes do meio, foram preparadas e esterelizadas, separadamente, (0,5atm/20 min) uma solução contendo a fonte de carbono e outra com os demais componentes, de modo que a primeira solução representou 30% do volume total. Para cada solução o pH foi ajustado ao redor de 6,0 utilizando solução de NaOH (2M) ou HCl (2M), conforme necessário.

Tabela 4.3: Composição do meio utilizado para ativação celular.

| Componente | Concentração |
|---|---|
| D-xilose | 20,0 g/L |
| Uréia | 1,25 g/L |
| $KH_2PO_4$ | 1,1 g/L |
| Extrato de levedura | 2,0 g/L |
| Solução de sais minerais e ácido cítrico | 40,0 mL/L |

(PEREIRA Jr., 1991)

Tabela 4.4: Composição da solução de sais minerais e ácido cítrico.

| Componente | Concentração (g/L) | Componente | Concentração (g/L) |
|---|---|---|---|
| $MgSO_4.7H_2O$ | 12,5 | $CuSO_4.5H_2O$ | 0,025 |
| $CaCl_2.2H_2O$ | 1,25 | $CoCl_2.6H_2O$ | 0,025 |
| Ácido cítrico | 12,5 | $NaMoO_4.2H_2O$ | 0,035 |
| $FeSO_4.7H_2O$ | 0,9 | $H_3BO_3$ | 0,050 |
| $MnSO_4$ | 0,19 | KI | 0,009 |
| $ZnSO_4.7H_2O$ | 0,30 | $Al_2(SO_4)_3$ | 0,0125 |

(PEREIRA Jr., 1991)

MEIOS PARA PROPAGAÇÃO CELULAR.

O processo de propagação celular para obtenção do inóculo foi realizado utilizando duas etapas, após a ativação das células como descritos abaixo:

Na primeira etapa foi utilizado meio que continha a mesma proporção de oligoelementos e nutrientes descritos para o cultivo de ativação. Porém, neste caso, a xilose foi substituída por hidrolisado, esterilizado durante 10 minutos a 0,5 atm, numa proporção de 25% do volume total. Na segunda etapa de aclimatação aumentou-se a porcentagem de hidrolisado para 50% do volume total necessário.

MEIOS PARA FERMENTAÇÃO

Para o preparo do meio sintético utilizado para fermentação foi adotada a mesma sistemática descrita para o meio de ativação, mudando apenas a concentração de xilose, como apresentado na Tabela 4.5.

Tabela 4.5: Composição do meio sintético para Fermentação.

| Componente | Concentração |
|---|---|
| D-xilose | 50,0 g/L |
| Uréia | 1,25 g/L |
| $KH_2PO_4$ | 1,1 g/L |
| Extrato de levedura | 2,0 g/L |
| Solução de sais minerais e ácido cítrico | 40,0 mL/L |

(BRITO, 2000)

Nas fermentações utilizando hidrolisado, foram mantidas as proporções de oligoelementos e fontes de nitrogênio descritas na Tabela 4.5. Nesse sentido, misturaram-se as fontes de nitrogênio e de fosfato ao volume de solução de sais a ser adicionado, sendo esterilizado por filtração em membrana com porosidade de 0,22 µm. O hidrolisado foi esterilizado separadamente, como descrito anteriormente (0,5 atm/ 10min).

### 4.3.5 Metodologia de Propagação Celular

Com o objetivo de investigar o efeito da aclimatação celular na fermentação de xilose em etanol, foram utilizadas diferentes estratégias de propagação celular para a

obtenção do inoculo. Porém, em todos os casos as células foram, inicialmente, ativadas em meio sintético de acordo com a seguinte metodologia: do repique em meio de manutenção foi retirada uma alçada de células, para um frasco cônico de 500mL contendo 200mL de meio de ativação que foi então incubado a 30ºC em agitador rotatório e 250rpm pelo tempo necessário para as células alcançarem um concentração apropriada.

Três estratégias de propagação celular foram avaliadas: em meio sintético em uma única etapa, em meio contendo 25% de hidrolisado em uma etapa e, em duas etapas utilizando meio contendo 25% de hidrolisado na primeira e 50% de hidrolisado na segunda. Na Figura 4.3 pode ser observado um esquema representativo para as três etapas de propagação.

As condições detalhadas para cada etapa de propagação foram:

a) No caso de crescimento em meio sintético numa única etapa, denominado propagação de células sem aclimatação, alíquotas de 10 mL foram retiradas do cultivo de ativação e usadas como inóculo em frascos cônicos de 500 mL contendo 100 mL de meio sintético e incubados sob as mesmas condições pelo tempo necessário para atingir a concentração celular desejada. Os cultivos assim realizados eram reunidos para obter o volume necessário a ser centrifugado (4000rpm/10min) para separar a massa celular utilizada como inoculo da fermentação. As células centrifugadas foram posteriormente ressuspensas no meio de fermentação assepticamente;

b) Neste caso o procedimento de propagação celular foi realizado utilizando uma única etapa em meio sintético sem xilose, misturando com hidrolisado numa proporção de 25%. As características da metodologia obedecem as mesmas descritas para o item anterior;

c) Para propagação celular com aclimatação em duas etapas, metodologia denominada aclimatação em duas etapas, uma alíquota de 10mL do cultivo de ativação era retirada e utilizada como inoculo em um frasco cônico contendo 200mL de meio contendo 25% de hidrolisado e as mesmas proporções de sais e fontes de nitrogênio. Após o tempo

apropriado de incubação, nas mesmas condições, alíquotas de 10mL eram retiradas do meio e utilizadas como inoculo em frascos cônicos contendo 200 mL de meio constituído de sais minerais, fontes de nitrogênio e 50% de hidrolisado. Os cultivos assim obtidos eram reunidos e o volume apropriado de meio para obter a concentração de inoculo desejada era centrifugado (4000rpm/10min). As células centrifugadas foram, posteriormente, ressuspensas assepticamente no meio de fermentação.

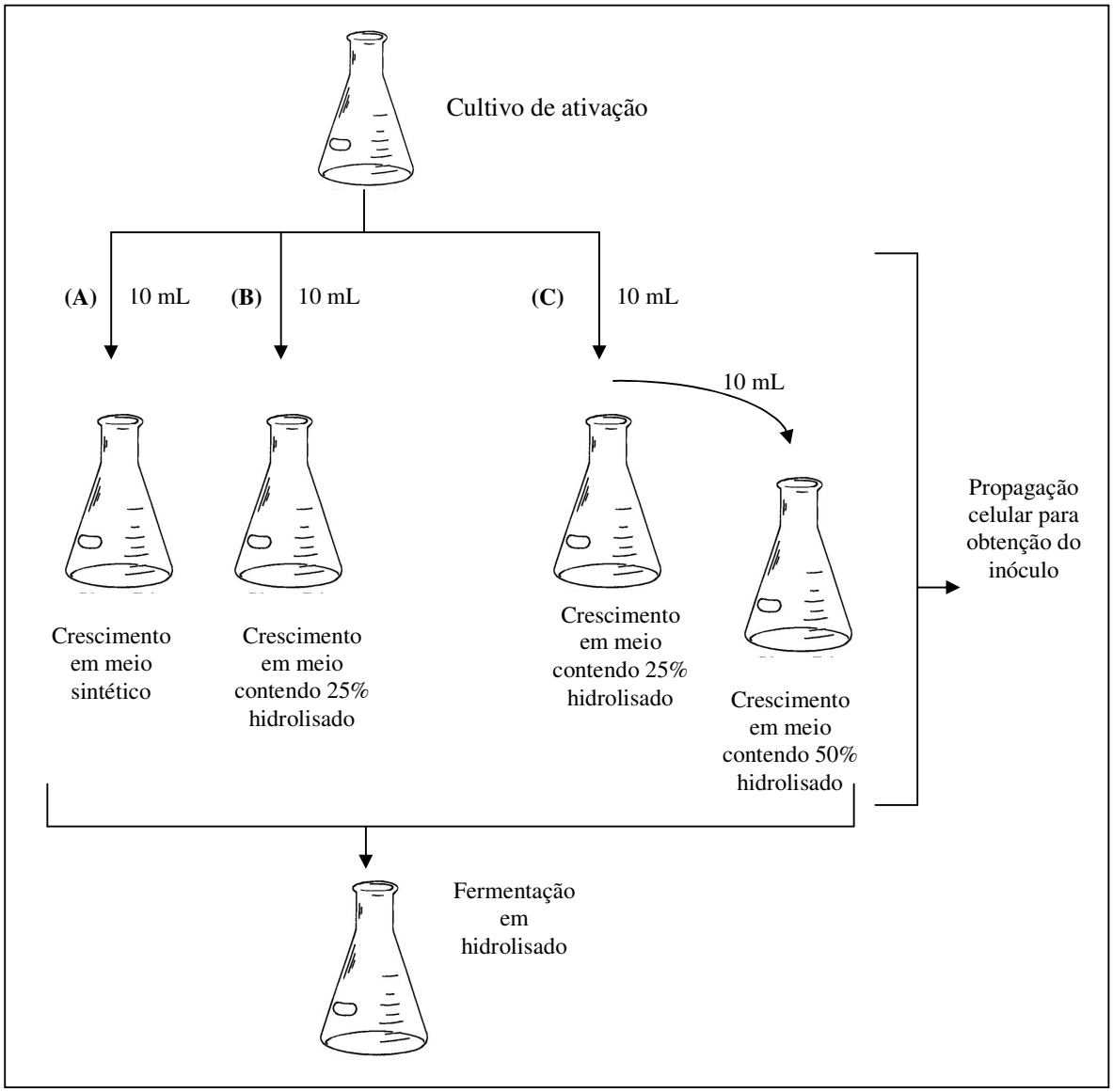



Figura 4.3: Esquema Representativo das Etapas Utilizadas para Propagação Celular. (A) Crescimento Numa Etapa em Meio Sintético; (B) Crescimento em uma Etapa em Meio Contendo 25% de Hidrolisado e, (C) Crescimento em duas Etapas em Meios Contendo 25% e 50% de Hidrolisado.

### 4.3.6 Fermentação em Biorreator Instrumentado

Para realização das fermentações sob condições controladas foi utilizado um biorreator Bioflo & Celligen 310 fabricado pela B. Braun Biotech International (Figura 4.4), empregando um vaso de 1,5L, contendo 800mL de meio de fermentação. O processo foi controlado automaticamente a uma temperatura de 30ºC, agitação de 200rpm, uma relação de aeração de 0,02 vvm e pH 6,0 mediante a adição de NaOH(2M) ou HCl (2M), utilizando em todos os casos uma concentração celular inicial próxima aos 5g/L (BRITO, 2000). Algumas modificações realizadas nas condições de fermentação adotadas durante o desenvolvimento do trabalho encontram-se especificadas na discussão correspondente ao experimento.

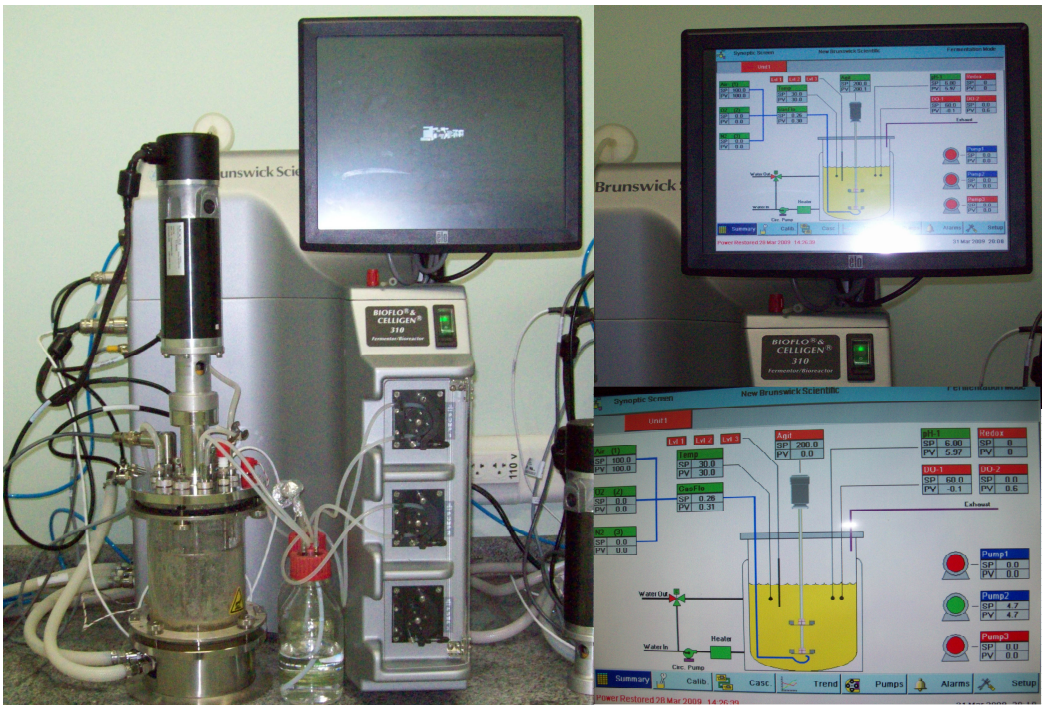



Figura 4.4. Biorreator Bioflo & Celligen 310 para Fermentação de Hidrolisado.

### 4.3.7 Processo SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*)

O processo SSF começa com a pré-hidrólise enzimática com experimentos em em duplicata, a uma temperatura de 47-50ºC, meio tamponado com citrato de sódio (pH 5,0), uma carga enzimática de 26 FPU/g de celulignina tratada, uma relação sólido:líquido de 1:5 (g de celulignina:mL de tampão citrato). (VASQUEZ, 2007) e por

um tempo de 12 horas. As corridas foram realizadas em erlenmayer de 500 mL utilizando fermentômetros e um volume de trabalho de 150mL.

Posteriormente, a temperatura do processo mudou-se para 37ºC, temperatura máxima que permite o desenvolvimento da levedura. O processo SSF foi inoculado com uma concentração inicial de levedura de 1,5g/L, utilizando-se com velocidade de agitação em 250rpm por um tempo de 48 horas.

A quantificação de açúcares e etanol gerado foi determinada por HPLC de acordo com tópico 4.4.2.

## 4.4 METODOLOGIA ANALÍTICA

Todos os experimentos foram retiradas alíquotas de 2mL com auxílio de pipetas estéreis do mesmo volume. As amostras eram centrifugadas a 3000rpm durante 5 minutos, sendo o sobrenadante destinado para dosagens de açúcares e produtos, após filtração em membrana de celulose com uma porosidade de 0,22 µm. O sedimentado era lavado duas vezes com água destilada e novamente centrifugado, nas mesmas condições descritas anteriormente, para promover a desfloculação das células e retirar qualquer componente do meio que interferisse na quantificação de biomassa. Em todos os procedimentos de amostragem foi observado o máximo rigor asséptico. Na Figura 4.5 encontra-se esquematizada a metodologia utilizada para o processamento das amostras.

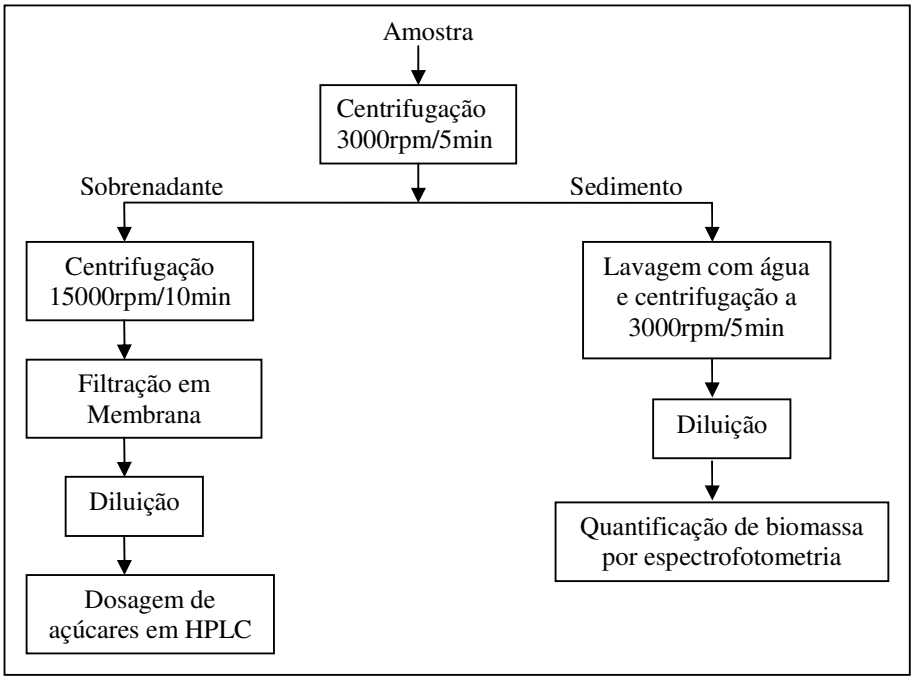



Figura 4.5: Representação Esquemática do Tratamento das Amostras

### 4.4.1 Determinação de Biomassa

A Quantificação celular foi realizada por correlação de massa seca e absorvância a 570nm (LEAL, 1998). Para tal, foi utilizada uma curva padrão que relaciona o peso da massa seca das células com a absorvância (Figura 4.6). As células utilizadas na construção da curva padrão foram cultivadas em frascos cônicos de 500mL contendo 200mL de meio de ativação, a 30º C em agitador rotatório a 250rpm. Após 48 horas de incubação, as células foram colhidas, lavadas e ressuspensas em água destilada, de modo a obter uma suspensão concentrada. A determinação da concentração das células foi realizada filtrando 20mL da suspensão, procedimento desenvolvido em triplicata, realizando pesagem dos filtros até obtenção de peso constante das amostras durante secagem a 80ºC (BETANCUR, 2005).

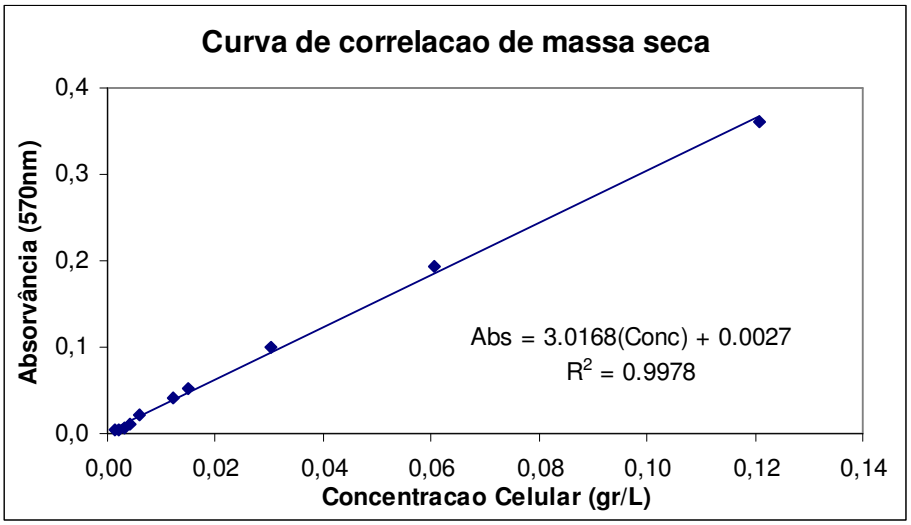



Figura 4.6: Curva de Calibração para Quantificação de Biomassa.
(BETANCUR, 2005)

### 4.4.2 Quantificação dos Açúcares

As concentrações de xilose, glicose, arabinose, etanol e xilitol, foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em cromatógrafo "Waters" (Sistema de bombeamento modelo 510, injetor Rheodyne, detector de índice de refração modelo 410), acoplado a uma coluna de troca catiônica Aminex HPX-87P, fabricada pelo Bio-Rad.

As concentrações das substâncias analisadas nas amostras foram calculadas por comparação com padrões externos de concentração conhecida, com áreas cromatográficas calculadas pelo próprio equipamento. A correlação utilizada para o cálculo das concentrações das amostras está abaixo:

$$\text{Concentração da amostra} = \frac{\text{Área da amostra X concentração do padrão}}{\text{Área do padrão}} \text{ X diluição}$$

Para a realização das análises foram preparadas soluções padrão de cada um dos açúcares presentes no hidrolisado (10g/L para cada um), de etanol (15g/L) e de xilitol (10g/L)

# CAPÍTULO 5

# RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5.1 PRODUÇÃO DE BIODIESEL POR ESTERIFICAÇÃO HOMOGÊNEA

A Figura 5.1 representa a comparação das curvas cinéticas dos ensaios (reações com os catalisadores ácidos homogêneos descritos em materiais e métodos e reação feita na ausência de catalisador), realizados com etanol anidro, a 130°C, na razão molar 3:1 (etanol:ácidos graxos). Já a Figura 5.2 representa a comparação das curvas cinéticas dos ensaios realizados com metanol anidro, a 130°C, na mesma razão molar.

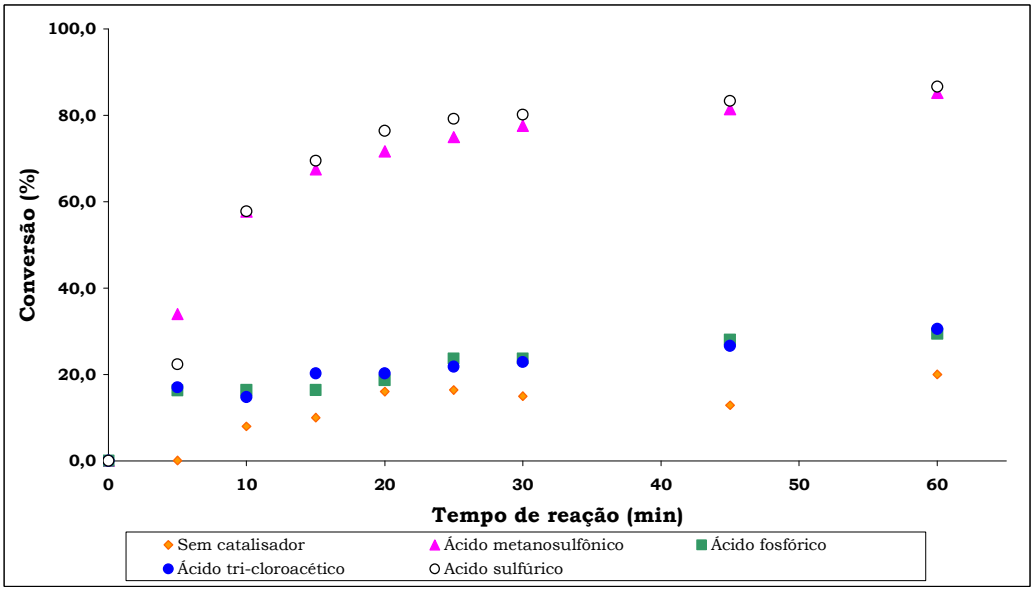



Figura 5.1: Curvas Cinéticas dos Ensaios Com Etanol Anidro.

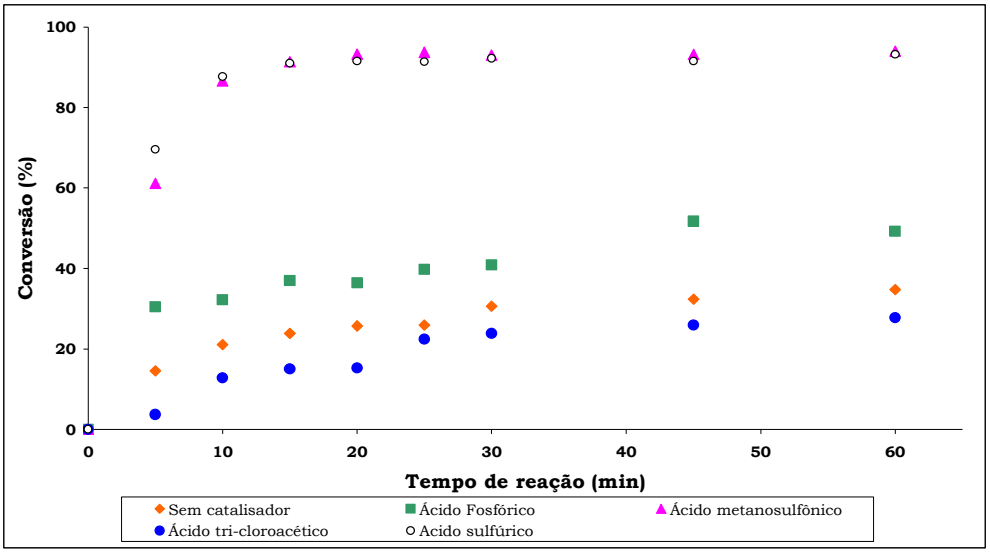



Figura 5.2: Curvas Cinéticas dos Ensaios Com Metanol Anidro.

De acordo com os resultados da Figura 5.2, observa-se que as melhores conversões obtidas, para as reações com etanol anidro quanto para as reações com metanol anidro, foram com os catalisadores ácido sulfúrico e ácido metanosulfônico.

Apesar da conversão a ésteres etílicos tender à estabilização no tempo de 20 minutos, existe um ganho de mais de 10% no valor de conversão nos experimentos com ácido metanosulfônico (18%) e ácido sulfúrico (13%), o que torna viável a realização do processo catalítico com um tempo de 60 minutos (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 – Comparação Entre o Tempo de Conversão nos Experimentos com Etanol Anidro

| Catalisador | Conversão em 20 minutos (%) | Conversão em 60 minutos (%) |
|---|---|---|
| Sem catalisador | 16,0 | 20,0 |
| Ácido fosfórico | 18,6 | 29,4 |
| Ácido tri-cloroacético | 20,2 | 30,6 |
| Ácido metanosulfônico | 71,7 | 85,2 |
| Ácido sulfúrico | 76,4 | 86,6 |

Na Tabela 5.2 nota-se um comportamento diferente nos experimentos realizados com metanol. O aumento na conversão a ésteres metílicos entre os tempos de 20 e 60 minutos não chega a 1%, com os catalisadores ácido metanosulfônico e ácido sulfúrico. Observa-se, com isso, um menor tempo para a realização deste processo.

Uma explicação para os rendimentos destes dois ácidos serem maiores é o fato de ambos serem praticamente anidros. O ácido fosfórico e o ácido tricloroacético, pelo contrário, não o são. O ácido fosfórico, por exemplo, apresenta cerca de 15% em peso de água. A água diminui consideravelmente o rendimento da esterificação.

O efeito negativo da água no rendimento da reação de esterificação pôde ser novamente observado nos ensaios que foram realizados com etanol e metanol hidratados. Nestes novos ensaios utilizou-se o ácido metano sulfônico como catalisador homogêneo da reação, como mostra a Figura 5.3 que compara as conversões, na presença e na ausência de catalisador.

Tabela 5.2 – Comparação Entre o Tempo de Conversão nos Experimentos com Metanol Anidro

| Catalisador | Conversão em 20 minutos (%) | Conversão em 60 minutos (%) |
|---|---|---|
| Sem catalisador | 25,7 | 34,8 |
| Ácido fosfórico | 36,5 | 49,3 |
| Ácido tri-cloroacético | 15,3 | 27,8 |
| Ácido metanosulfônico | 93,3 | 94,0 |
| Ácido sulfúrico | 91,6 | 93,2 |

Os resultados com metanol apresentaram-se mais promissores do que os resultados realizados com etanol, mas o uso atualmente da rota etílica no Brasil oferece uma vantagem: a oferta desse álcool, disseminada por todo o território nacional. Assim, os custos diferenciais de fretes para o abastecimento de etanol versus o abastecimento de metanol, em certas situações, podem influenciar na decisão na opção do agente de esterificação. Adicionalmente, sob o ponto de vista ambiental, o uso do etanol leva vantagem sobre o uso do metanol, pois este último geralmente é obtido de derivados do petróleo, diferentemente do etanol combustível que é produzido a partir da biomassa, como é o caso da totalidade da produção brasileira. O país produz um combustível

100% renovável, gerando, ainda, mais ocupação e renda no meio rural, mais economia de divisas, sendo uma tecnologia completamente consolidada.

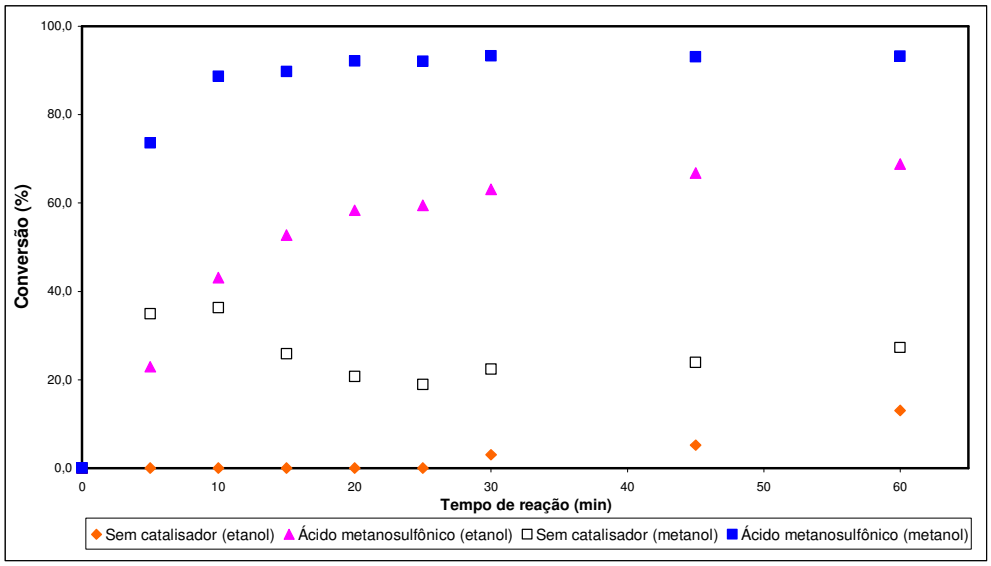



Figura 5.3: Curvas Cinéticas dos Ensaios na Ausência e Presença do Ácido Metanosulfônico, em Etanol Hidratado (4% de água) e Metanol Hidratado (4% de água).

A explicação para o efeito negativo no rendimento da reação de esterificação está baseada no equilíbrio das espécies ácidas com a carbonila presente nos ácidos graxos, que é mostrado na Figura 5.4 abaixo.

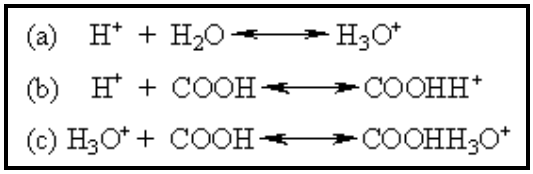



Figura 5.4: Reações de Equilíbrio Ácido-Básico das Espécies Envolvidas na Formação de Biodiesel.

O equilíbrio mostrado em (a) só ocorre quando o meio é hidratado (no caso do ácido fosfórico e do ácido tricloroacético e dos álcoois hidratados). Neste caso, após o equilíbrio de (a), ocorre o mostrado em (c). Já para o meio anidro de fato, não acontece o equilíbrio mostrado em (a) e sim, o que é mostrado em (b). A espécie $H_3O^+$ é muito mais estável que a espécie $H^+$. Por conta disso, é muito mais difícil protonar a carbonila com $H_3O^+$ do que com $H^+$. Assim, o equilíbrio de (b) fica muito mais deslocado para a

direita que o de (c). Como as espécies do lado direito das equações (b) e (c) são intermediários fundamentais para a formação dos ésteres, temos que a espécie COOH-$H^+$ é muito mais fácil de ser formada que COOH-$H_3O^+$. Dessa forma, a reação em meio anidro acaba sendo favorecida em relação ao meio hidratado (SANTOS, 2005).

Na Figura 5.5, podemos observar os resultados de conversão em função do tempo para os experimentos realizados com ácido metanosulfônico, quando foram variadas as suas concentrações no meio reacional.

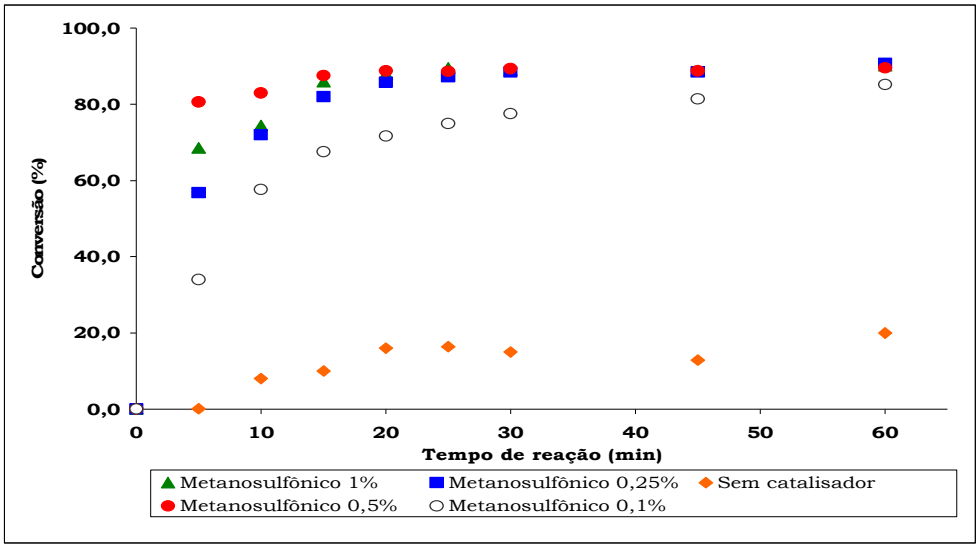



Figura 5.5. Gráfico de Conversão versus Tempo para Reações com Diferentes Teores de Ácido Metanosulfônico na Esterificação Etílica de Ácidos Graxos de Palma.

Pode-se observar, a partir deste gráfico, que o uso deste catalisador resulta em uma melhora significativa no rendimento da reação. Também pode ser observado que o aumento da quantidade de catalisador não aumenta significativamente a conversão final, podendo ser recomendada a concentração de 0,5% de ácido metanosulfônico, como a ideal para a reação de esterificação etílica de ácidos graxos de palma.

## 5.2. PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DO BAGAÇO DE DENDÊ

### 5.2.1 Aproveitamento da Fração Hemicelulósica

Visando altas concentrações de substrato nos hidrolisados hemicelulósico, condição necessária para se obter altas concentrações de etanol na fermentação dos

mesmos, tencionou-se determinar as melhores condições de pré-tratamento ácido. Para tanto, foram realizados os experimentos no reator do tipo PARR, indicados no planejamento central composto, juntamente com os respectivos resultados (Tabela 5.3).

Tabela 5.3: Resultados do Planejamento Experimental para a Otimização das Condições de Hidrólise Ácida.

| Experimento | Temperatura (ºC) | Tempo de exposição (min) | Conc. Ácido $H_2SO_4$ (% v/v) | Conc. Xilose (g/L) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 120 | 6 | 0,15 | 0 |
| 2 | 200 | 6 | 0,15 | 1,22 |
| 3 | 120 | 30 | 0,15 | 0 |
| 4 | 200 | 30 | 0,15 | 1,87 |
| 5 | 120 | 6 | 0,75 | 2,33 |
| 6 | 200 | 6 | 0,75 | 0 |
| 7 | 120 | 30 | 0,75 | 11,17 |
| 8 | 200 | 30 | 0,75 | 0,04 |
| 9 (C) | 160 | 18 | 0,45 | 12,2 |
| 10 (C) | 160 | 18 | 0,45 | 12 |
| 11 (C) | 160 | 18 | 0,45 | 11,18 |
| 12 (C) | 160 | 18 | 0,45 | 11,78 |
| 13 (C) | 160 | 18 | 0,45 | 11,98 |

(C) Pontos Centrais

Nos resultados apresentados na Tabela 5.3, pode-se observar que as maiores concentrações de xilose, foram obtidas no ponto central, quando o resíduo estava submetido a uma temperatura mediana e um tempo mediano. Nesta condição houve uma desorganização na estrutura lignocelulósica, mas não foi tão eficiente já que resultou em concentrações de xilose relativamente baixas. A baixa concentração dos açúcares no hidrolisado pode ser devido à degradação dos mesmos, supostamente pelo elevado grau de severidade (sinergismo entre temperatura, tempo de exposição e concentração de ácido) imposto no tratamento térmico. Este problema pode estar relacionado com vários fatores: a carbonização da fibra devido às características do equipamento, degradação de açúcares do material em contato com as paredes do vaso reacional e a problemas de transferência de calor no reator PARR, desenhado para sistemas homogêneos, diferentes da mistura sólida utilizado neste trabalho que impede a agitação durante o pré-tratamento para a relação sólido: líquida empregada (1:4). Uma

evidencia da degradação dos açúcares foi a coloração do hidrolisado hemicelulósico que se apresentou mais escura.

Devido aos fatores listados, optou-se pela realização do pré-tratamento ácido sob condições mais brandas e em autoclave, metodologia rotineira do Laboratório de Desenvolvimento de Bioprocesso (LADEBIO), na que se usou as seguintes condições: relação sólido: líquido (1:4), concentração de ácido sulfúrico: (0,75% v/v) e pressão: 1atm (121ºC). Com esta metodologia pretendeu-se garantir uma dinâmica mais apropriada para a transferência de calor ao interior da matriz sólida umedecida com a solução ácida. Nos hidrolisados assim preparados obteve-se uma maior concentração de xilose (aproximadamente 20 g/L) comparando com a melhor condição do planejamento, sendo isto mais um indicativo da possível degradação dos açúcares que ocorreu no processo realizado em reator PARR. Adicionalmente, o sólido e o hidrolisado apresentaram-se mais claros.

O hidrolisado suplementado com extrato de levedura, uréia e solução de sais foi fermentado utilizando células da levedura *P. stipitis* CBS 5774, aclimatadas em duas etapas, como descrito no capítulo de materiais e métodos. O perfil cinético da fermentação é apresentado na Figura 5.6, na qual, nota-se o comportamento da concentração de xilose, etanol, massa celular e xilitol.

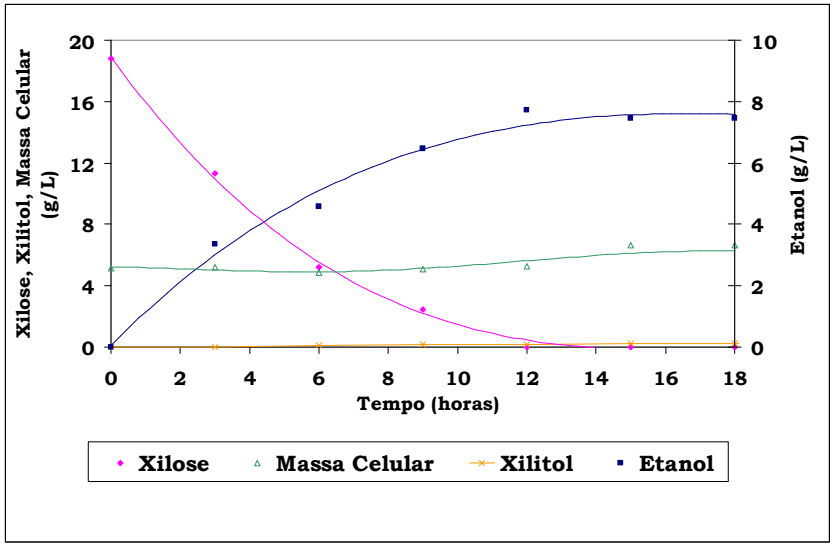



Figura 5.6: Cinética de Fermentação do Hidrolisado Hemicelulósico de Bagaço de Dendê em Biorreator com Células Aclimatadas.

Nesta figura, observa-se uma alta taxa no consumo de xilose nas oito primeiras horas de fermentação, coincidindo com uma alta taxa de produção de etanol, como esperado, devido o microrganismo utilizado. As baixas concentrações de xilitol (importante intermediário no metabolismo de xilose) denotam que a condição imposta permitiu manter o potencial redox na célula que assegurasse o reduzido acúmulo desse poliol.

A produção de etanol atingiu 7,45 g/L, correspondendo a um valor de produtividade volumétrica de 0,62g/L.h e um fator de rendimento de 0,40 g/g (etanol/xilose consumida). Como subproduto da fermentação quase não foi detectado xilitol, alcançando uma concentração de 0,74 g/L, de acordo com a Figura 5.7.

As condições utilizadas no processo de fermentação levaram a pouca variação na concentração de biomassa, com um rendimento em células ($Y_{x/s}$) de 0,048 g/g, indicando como o metabolismo das células foi direcionando para a produção de etanol, sem perda da viabilidade das células.

Nas primeiras seis horas de fermentação observou-se uma maior taxa de produção de etanol (0,76 g/L.h). Posteriormente, a taxa de produção de etanol diminuiu até a concentração de etanol estabilizar em um tempo de 12 horas.

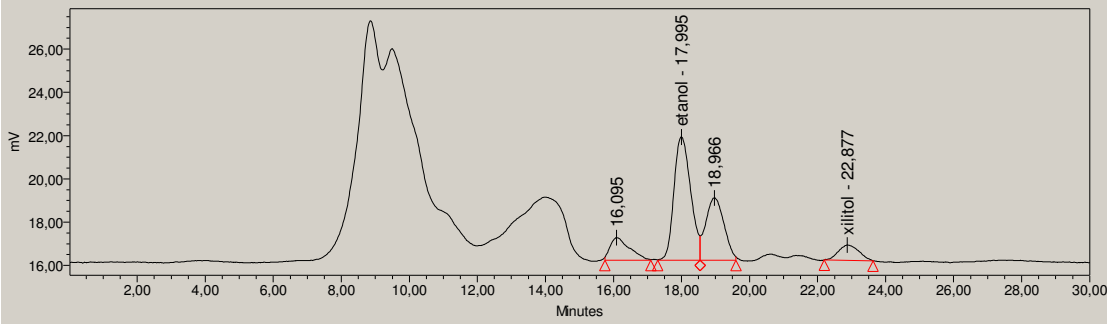



Figura 5.7: Cromatograma da Fermentação do Hidrolisado Hemicelulósico de Bagaço de Dendê em Biorreator com Células Aclimatadas.

## 5.3 APROVEITAMENTO DA FRAÇÃO CELULÓSICA

A celulose é intrinsecamente resistente ao ataque hidrolítico, além de ser protegida pela matriz de lignina e hemicelulose que a envolvem. O desafio técnico-

econômico para a utilização de materiais lignocelulósicos reside em facilitar a atuação das enzimas sobre a celulose contida nestes materiais (PAN *et al*., 2005).

Desta forma, o resíduo sólido proveniente do pré-tratamento ácido do bagaço de dendê, realizado para a remoção da fração hemicelulósica, é denominado celulignina. Este resíduo sofreu um tratamento térmico com solução de NaOH (deslignificação alcalina), com o objetivo de remover parte da celulignina, bem como aumentar o pH do sólido remanescente. Este sólido parcialmente deslignificado foi submetido a lavagens com água para a remoção da alcalinidade intersticial e da lignina residual, observando-se uma coloração mais escura nas águas de lavagem.

### 5.3.1 Pré-Tratamento Alcalino

Pesquisas desenvolvidas por SEWALT *et al*. (1997) relatam que pré-tratamentos que empregam soluções concentradas de NaOH conseguem aumentar as taxas de sacarificação na hidrólise enzimática. MENEZES & AGUIAR (2002) indicaram um aumento significativo na digestibilidade/acessibilidade da celulose, quando o resíduo lignocelulósico foi submetido à deslignificação alcalina, tornando o substrato mais acessível ao ataque das enzimas do complexo celulásico. Segundo LEE *et al*. (1997), o pré-tratamento com NaOH aumenta a exposição da celulose, devido ao efeito deslignificante, melhorando a hidrólise enzimática. Estudos realizados por YUNG & ROWELL (1986) indicaram que um grau de deslignificação de até 50% gera um aumento na taxa de sacarificação do substrato, mas aumentos maiores na remoção da lignina não apresentam incrementos significativos na taxa de sacarificação.

Os pré-tratamentos alcalinos em uma etapa consistiram em submergir a celulignina em uma solução de NaOH (os ensaios foram realizados em duas concentrações 1% m/v e 4% m/v), utilizando uma relação sólido:líquido de 1:20 (g/mL) e tratamento térmico por um tempo de 30 min, como descrito no capítulo de materiais e métodos.

Após a lavagem dos sólidos com água destilada, notou-se uma coloração diferenciada conforme a concentração de NaOH, sendo aqueles provenientes do tratamento mais severo (NaOH 4%) mais claros. Adicionalmente, quando utilizada a solução de NaOH 4% (m/v), o líquido da deslignificação apresentou uma cor mais

intensa, indicativo de uma maior presença de lignina da fase líquida; enquanto com a solução NaOH 1% (m/v) a cor foi mais clara, indicando a remoção parcial da lignina.

### 5.3.2 Processo SSF

Ambos os sólidos obtidos com diferentes concentrações de NaOH foram utilizados para a realização do processo SSF (hidrólise enzimática simultânea à fermentação alcoólica). Neste processo, foi possível notar que o sólido submetido à deslignificação com NaOH na maior concentração (4% m/v) apresentou uma concentração de etanol equivalente de 18,30 g/L, enquanto o sólido que foi submetido a deslignificação com NaOH 1% (m/v) resultou em uma concentração de etanol equivalente de 14,25 g/L.

O etanol foi obtido pelo processo SSF, que consiste de uma pré-hidrólise durante 12 horas para degradação da celulose em glicose, seguida de inoculação com uma linhagem de *S. cerevisiae* por um tempo adicional de 48 horas (Figura 5.8).

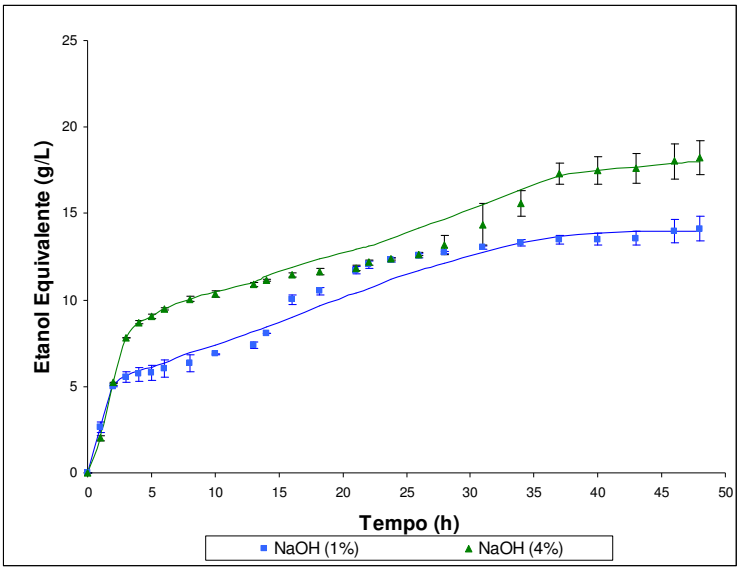



Figura 5.8: Curva Cinética para Obtenção de Etanol em Processo SSF.

## 5.4. BALANÇOS MÁSSICOS PARA O PROCESSO INTEGRADO DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL

De acordo com GUITIÉRREZ *et al.* (2009) o bagaço de dendê apresenta a seguinte composição: 40%(m/m) umidade, 24%(m/m) celulose, 14,4%(m/m) hemicelulose, 12,6%(m/m) lignina e 6,0%(m/m) extrativos.

Em um cenário no qual são produzidos entre 50Kg e 70Kg de borra ácida durante o processamento de 1 tonelada de óleo bruto de palma, são gerados simultaneamente 4 toneladas (massa úmida) de bagaço de dendê. Considerando a composição descrita para o bagaço e segundo os resultados experimentais, para cada tonelada de bagaço de dendê (massa seca) podem ser produzidos 76,04kg de etanol, sendo 24,83kg provenientes do aproveitamento da fração hemicelulósica e o restante 51,20Kg da fração celulósica.

Sabendo-se que nas melhores condições de esterificação etílica, da borra ácida de palma, utiliza-se uma proporção de 170g de etanol para cada 307g de borra ácida, percebe-se que a quantidade de etanol requerida é de 38,76kg etanol para processar a totalidade de borra ácida gerada no processamento de uma tonelada de óleo bruto.

Podemos afirmar que a quantidade de etanol produzido do bagaço de dendê, mesmo em condições não otimizadas, seria suficiente para o processamento da totalidade da borra ácida, tendo um excedente substancial plausível de 142,8kg de etanol que pode ser direcionado para outros processamentos ou para comercialização.

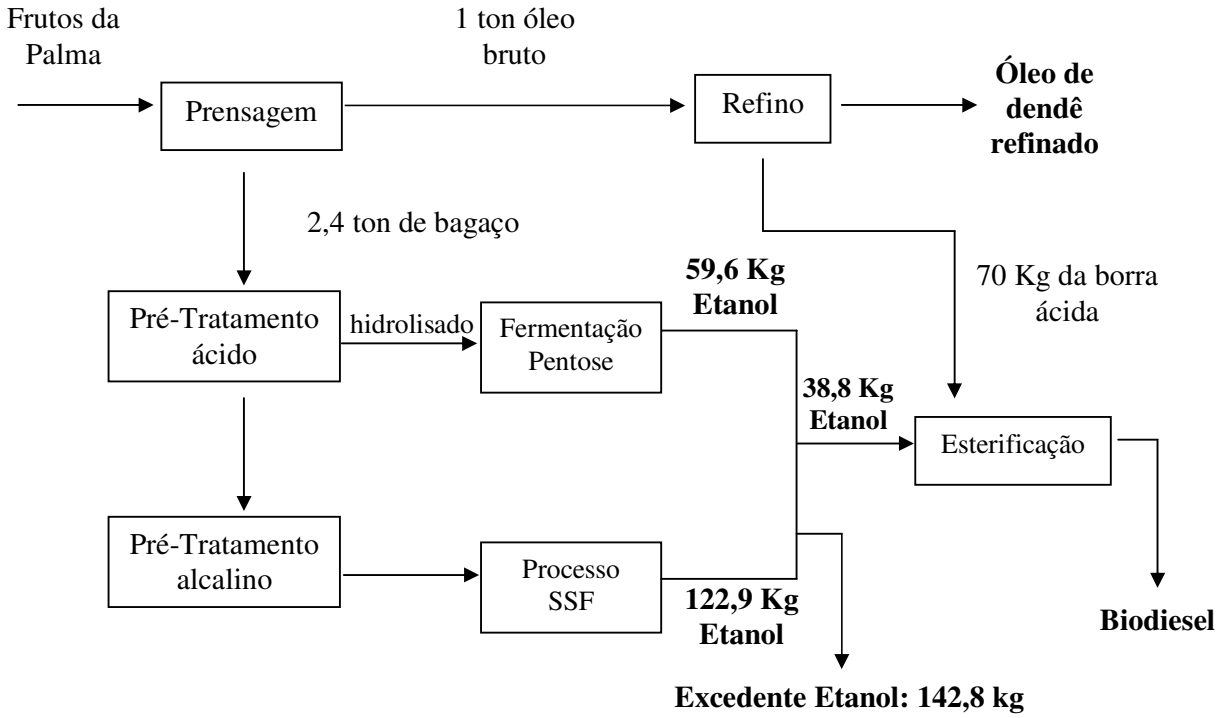



Figura 5.9: Fluxograma do Processo de Integração entre a Produção de Resíduos da Indústria de Dendê e a Produção de Etanol.

Nota-se um excedente também de matéria-prima (bagaço), este por outra via pode ser utilizado para queima visando à destilação do próprio etanol. Sabendo-se a quantidade necessária para obtenção do biodiesel etílico, podemos dimensionar a quantidade de resíduo em massa seca que poderá ser usado para queima. De acordo com balanço de massa notamos que a quantidade necessária de bagaço de dendê para produzir 38,76Kg de etanol é 509,77 kg de bagaço em massa seca. Portanto temos um excedente de 1.890kg de bagaço de dendê. A Figura 5.9 ilustra o processo descrito.

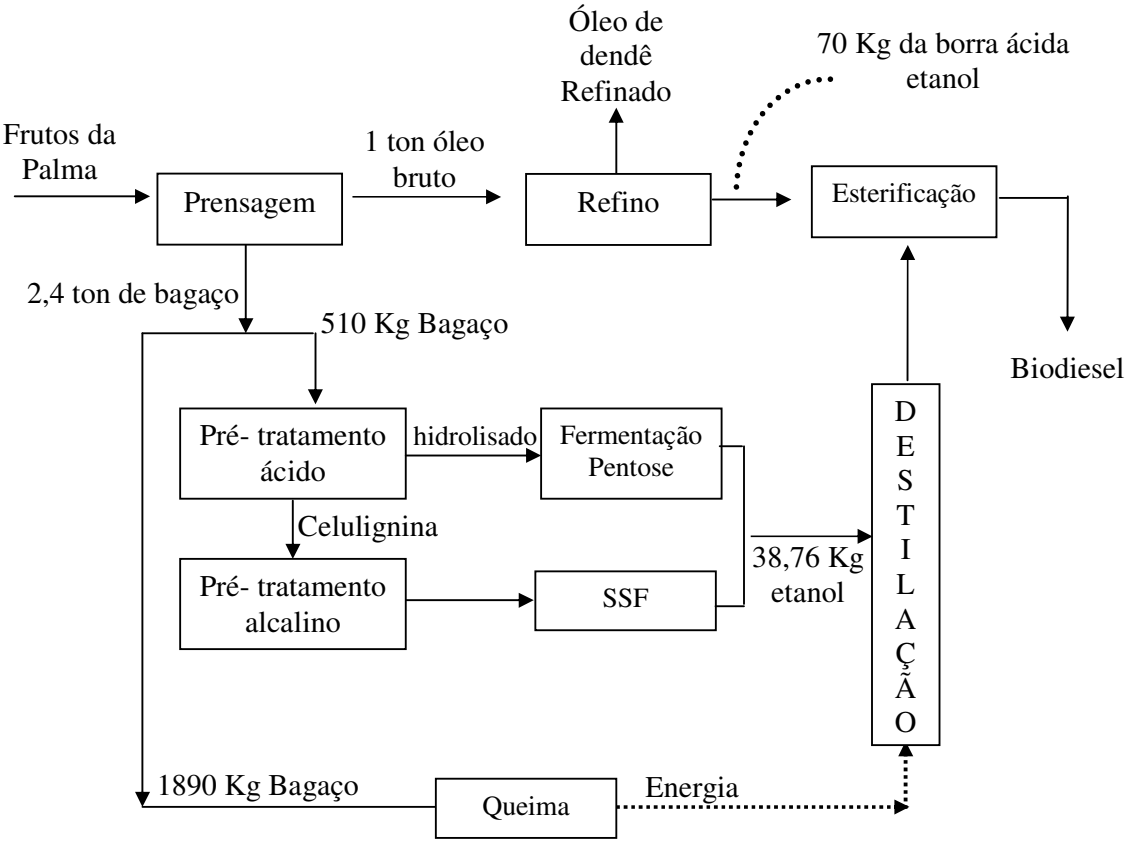



Figura 5.10: Fluxograma para Destilação do Etanol Aproveitando o Excedente do Resíduo da Indústria de Dendê.

# CAPÍTULO 6

# CONCLUSÕES

Neste capítulo, além de uma discussão sobre as conclusões obtidas ao longo desta dissertação, deseja-se fazer sugestões para futuras pesquisas nesta linha bastante promissora relacionada à produção de biodiesel a partir de resíduos agroindustriais.

1. A produção de biodiesel da borra de palma por uma configuração que usa etanol produzido de resíduos sólidos da mesma matéria-prima oferece um grau de integração que torna possível a redução dos custos de energia comparando a produção autônoma de biodiesel e bioetanol. Esta opção é muito atrativa, levando em conta não somente o consumo de energia, mas também a mitigação e valorização do resíduo sólido gerado durante o processamento do óleo de palma. Em particular, os cachos vazios e as fibras da palma que saem da prensa, produzidos durante a extração do óleo. Estes resíduos possuem uma grande quantidade de biomassa lignocelulósica, fazendo destes materiais excelentes matérias-primas para conversão em etanol.
2. Observa-se que os resultados obtidos com os catalisadores homogêneos mostram que as melhores conversões obtidas, para as reações com etanol anidro, foram com os catalisadores ácido sulfúrico (86,6%) e ácido metanosulfônico (85,2%).
3. O resíduo lignocelulósico de dendê é passível de ser utilizado como matéria prima para a produção de etanol, sendo alcançada, neste trabalho, uma concentração de etanol 7,45g/L a partir do aproveitamento da fração hemicelulósica e de 18,30g/L pela utilização da celulose.
4. Os valores obtidos de etanol, pelo aproveitamento da fração celulósica de bagaço de dendê, sinalizaram desdobramentos importantes para etapas futuras de otimização.

Neste processo, foi possível obter uma concentração de etanol de 18,30 g/L quando utilizado um pré-tratamento alcalino com NaOH 4% (m/v) enquanto foi observada uma concentração de etanol de 14,25 g/L quando o sólido foi submetido à deslignificação com NaOH 1% (m/v).

5. O processo de integração foi determinado através de um balanço de massa, no qual foi descoberta a quantidade de etanol necessária para produção de biodiesel (38,8Kg de etanol) e o quanto é gerado durante os processos de fermentação, 182,5kg de etanol, concluímos que a quantidade de etanol produzido é maior do que a quantidade requerida, gerando um excedente de etanol.

# SUGESTÕES

1. Futuros estudos que envolvam o uso de catalisadores heterogêneos, para esterificação etílica, apresenta-se como alternativa para o processo, tendo como atrativo a facilidade de remoção do meio reacional e a possibilidade de ser utilizado várias vezes;
2. Determinação do poder de combustão do biodiesel produzido por esta rota e seu desempenho em motores por compressão.
3. Dados os resultados obtidos para o pré-tratamento ácido, novos estudos em outras condições ou acondicionando o reator para um sistema heterogêneo com alta carga de sólidos e melhoramento no sistema de aquecimento.
4. O desenvolvimento de técnicas que permitam a caracterização do material lignocelulósico faz-se necessária para uma melhor determinação da eficiência de cada uma das etapas do processo de aproveitamento da matriz sólida para a produção de etanol;
5. Para o desdobramento tecnológico do processo serão necessários estudos que permitam a otimização de cada uma das etapas abordadas neste trabalho, o que permitirá um ostensível aumento na produtividade global do processo.
6. Considerando-se condições otimizadas, viabilizar estudos técnico–econômica integrando os processo para produção de biodiesel utilizando a rota etílica.

# CAPÍTULO 7

# REFERÊNCIAS


Abdul Aziz, A., Das, K., Husin, M., Mokhtar, A., 2002a. *Effects of physical and chemical pre-treatments on xylose and glucose production from oil palm press fibre*.Journal of Oil Palm Research 14 (2), 10–17.

Abdul Aziz, A., Husin, M., Mokhtar, A., 2002b. *Preparation of cellulose from oil palm empty fruit bunches via ethanol digestion: effect of acid and alkali catalysts*. Journal of Oil Palm Research 14 (1), 9–14.

ADSUL, M.G.; GHULE, J.E.; SHAIKH, H.; SINGH, R.; BASTAWDE, K.B.; GOKHALE, D.V & VARMA, A.J. (2005) *Enzymatic hydrolysis of delignified bagasse polysaccharides. Carbohydrate Polymers*, v. 62, p. 6-10.

AGUILAR, R.; RAMÍREZ, J.A.; GARROTE, G.;VÁSQUEZ, M. (2002) Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. Journal of Food Engineering, v. 55 n. 4, p 309-318.

ANEEL - Agência Nacional de Energia Elétrica - (2005) *Atlas de Energia Elétrica do Brasil*. Brasília, 2 edição, p. 243. Disponível em: http://www.aneel.gov.br. Acesso: mar/2009.

ANTUNES, J.C. (1997). Bioconversão de D-xilose a etanol por células de *Pichia stipitis.* Dissertação de Tese de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

ARANDA, D.A.G.; ANTUNES, O.A.C, *Processo catalítico para esterificação de ácidos graxos presentes na borra ácida da palma utilizando catalisadores sólidos ácidos*, PI 0301103-8, 2003

ARANDA, D.A.G.; ANTUNES, O.A.C, *Catalytic process to the esterification of fatty acids presentes in the acid grounds of the palm using acid solid catalysts*, WO 2004096962, 2004

AWAFO, V.A. (1997) Biosynthesis of Cellulase-System from Trichoderma reesei and Its Characteristics. Tese de Doutorado. Departamento de Ciência de Alimentos e Química Agrícola, McGill University, Canadá.

BADGER, P.C. (2002) *Ethanol from Cellulose*: A General Review. In: JANICK,J.; WHIPKEY, A. Trends in New Crops and New Uses. Alexandria: ASHS Press.

BARRE, P.; BLONDIN, B.; DEQUIN, S.; FEUILLAT, M.; SABLAYROLLES, J.M.; SALMON, J.M. La levadura de fermnetación alcohólica. In: FLANZY, C. Enología: fundamentos científicos e tecnológicos. Madrid: Mundi-Prensa e AMV, p. 274-315, 2000.

BENDER, M., *Economic feasibility review for community-scale farmer cooperatives for biodiesel*, Bioresource Technology 70 (**1999**) 81-87

BERG, A. (2006) *Región tiene materia prima para biorrefinería. Diario el sur*. Disponível em: http://www.elsur.cl. Concepción, Chile. Acesso: Junho/2008

BETANCUR, G.J.V. (2005) *Avanços em Biotecnologia de Hemicelulose para Produção de Etanol por Pichia stipitis.* Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Brasil.

BHAT, M.K. & BHAT, S. (1997) Cellulose Degrading Enzymes and their Potential Industrial Applications. Biotechnology Advances, v. 15, p. 583-620.

BRITO, F. (2000). Bioprodução de etanol de hidrolisado de bagaço de cana utilizando diferentes formas de operação do bioprocesso. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Brasil.

BRUINENBERG, P.M.; DE BOT, P.H.M.; VAN DIJKEN, P.; SHEFFERS W.A. (1984). NADH Linked Aldose Reductase: the key to anaerobic Alclholic Fermentation of Xylose by Yeast. Applied Microbiology and Biotechnology, v.19, p. 256-260.

CÂMARA, L.D.T; MONTEIRO, R.S; SANTOS, R.T.P.; ARANDA, D.A.G., *Combustão de Glicerol como Alternativa Energética em plantas de Biodiesel*, in I Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel (**2006**), Brasília - Brasil

CARAMEZ, M. (1999) *Produção de Endoxilanases Termoestáveis por Termomyces lanuginosus IOC-4145 em Meio Semi-Sólido*. Dissertação de Tese de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químico e Bioquímicos da Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

COM - Comissão das Comunidades Européias. *Estratégia da União Européia no domínio dos biocombustíveis*. Bruxelas, p. 31. Disponível em: http://ec.europa.eu. Acesso: Abr/ 2006.

Copyright POWER (2007) *Petróleo, Eletricidade e Energias Alternativas*. Biblioteca Virtual de Engenharia de Petróleo. Disponível em: http://www.dep.fem.unicamp.br/novabv. Acesso: Agosto/2008

CUZENS, J.C.; MILLER, J.R. (1997). Acid hydrolysis of bagasse for ethanol production. Renewable Energy, v. 2/3, n. 10, p. 285-290.

D'ALMEIDA, M.L.O. (1988) *Composição Química dos Materiais Lignocelulósicos. In: Celulose e Papel, Tecnologia de Fabricação da Pasta Celulósica*. Brasil, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A. (IPT). 2º Edição, v. 1, Capitulo III, p. 45-106.

DELGENES, J.P.; MOLETTA, R. & NAVARRO, J.M. (1988) Continuous Production of Ethanol from Glucose, Xylose and Arabinose Mixture by a Flocculant Strain of Pichia stipitis. Biotechnology Letter, v. 10, n. 10, p.752-730.

DEMIRBAS, A., *Biodiesel from sunflower oil in supercritical methanol with calcium oxide*, Energy Conversion and Management (2006), doi:10.1016/j.enconman. 2006.08.004

DU PREEZ, J.C.; KOCK, J.L.F.; MONTEIRO, A.M.T. & PRIOR, B.A. (1985) *The Vitamin Requirements of Candida shehatae for Xylose Fermentation*. FEMS Microbiology Letters, v. 28, n. 3, p. 271-275.

ERIKSSON, T.; BÖRJESSON, J. & TJERNELD, F. (2002) Mechanism of Surfactant Effect in Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose. Enzyme and Microbial Technology, v. 31, p. 353-364.

FAIRBANKS, M. (2003) Álcool: Tecnologia, Ampla Oferta e Reduz Custo do Álcool. Química e Derivados, n. 417. Disponível em: http://www.quimica.com.br. Acesso: fev./ 2009.

FOGEL, R. (2004). Otimização da hidrólise ácido de bagaço de cana-de-açúcar e utilização do hidrolisado na produção de xilitol por *Candida guilliermondii*. Dissertação de Tese de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Tcnologia de Pocessos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

FONSECA, E.F. (2003) Estudos para a Otimização da Produção Enzimática de Sorbitol e Ácido Glicônico. *Tese de Doutorado. PEQ/COPPE. Universidade* Federal de Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. Brasil.

GUTIÉRREZ, T.; BUSKO, M.L.; INGRAM, L.O.; PRESTON. J.F. (2002). Reduction of furfural to furfuryl alcohol by ethanologenic strains of bactéria and its effect on ethanol production from xylose. Applied Biochemistry and Biotechnology, v. 98-100, p. 327-340.

GUTIÉRREZ, L.F, SÁNCHEZ, O. J, CARDONA, C.A, (2009) *Process integration possibilities for biodiesel production from palm oil using ethanol obtained from*

*lignocellulosic residues of oil palm industry.. Bioresource Technology*, v. 100, p. 1227-1237.

HAAS, M.J.; McALOON, A.J.; YEE, W.C.; FOGLIA, T.A., *A process model to estimate biodiesel production costs*, Bioresource Technology 97 (**2006**) 671–678

HAHN-HAGERDAL, B.; NILVEBRANT, N.O.; PALMQVIST, E.; JONSSON, L.J.(1998). Detoxification of wood hydrolisates with lacasse and peroxidade from white-rot fungus *Trametes vesrocolor.* Applied Biochemistry and Biotechnology, v.49, p. 691-697.

HAHN-HAGERDAL, B.; LINDÉN, T.; SENAC, T.; SKOOG, K.(1991). Ethanolic fermentation of pentoses in lignocellulose hydrolisate. Applied Biochemistry and Biotechnology, v. 28-29, p. 131-144.

HASSUANI, S.J. (2005) Resíduos agrícolas – palha. In: CURSO INTERNACIONAL: "ENERGIA NA INDÚSTRIA DE AÇÚCAR E ÁLCOOL", Piracicaba. São Paulo: CTC – Copersucar. Brasil.

HENRISSAT, B. (1991) A Classification of Glycosyl Hydrolases Based on Amino Acid Sequence Similarities. Biochemical Journal, v. 280, p. 309-316.

KLEMAN-LEYER, K.M. et al. (1996) The Cellulases Endoglucanase I and Cellobiohydrolase II of Trichoderma reesei Act Sinergistically to Solubilize Native Cotton Cellulose but not to Decrease its Molecular Size. Applied and Environmental Microbiology. v. 62, n. 8, p. 2883-2887.

KNAUF, M. & MONIRUZZAMAN, M. (2004) *Lignocellulosic Biomass Processing*: A Perspective. International Sugar Journal, v. 106, p. 12-23.

LAUREANO-PEREZ, L.; TEYMOURI, F.; ALIZADEH, H. & DALE, B.E. (2005) Understanding Factors that Limit Enzymatic Hydrolysis of Biomass. Applied Biochemistry and Biotechnology, v. 121-124, p. 1081-1099.

LEAL, M.L.(1998) Reciclo Celular na Produção Contínua de Etanol a Partir de D-xilose com uma Linhagem Floculante de *Pichia stipitis.* Dissertação de Tese de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

LEAL, M.R.L.V. (2004) Energia na indústria de açúcar e álcool: A cana como fonte de energia. Disponível em: http://www.nest.unifei.edu.br. Acesso: março./2009.

LEE, J. (1997) *Biological Conversion of Lignocellulosic Biomass to Ethanol*. Journal of Biotechnology, v. 56, p. 1-24.

LEE, R.L. (1996) *Overview and Evaluation of Fuel Ethanol from Cellulosic Biomass:* Technology, Economics, the Environment, and Policy. Energy Environment, v. 21, p. 403-465.

LEMOS, J.L.S. *Estudo da Produção de Xilanases por Aspergillus awamori em Bagaço de cana*. Teses de Doutorado. Escola de Química / UFRJ (2001), Rio de Janeiro - Brasil.

LIMA, P.C.R., *O biodiesel e a inclusão social*, Câmara dos Deputados – Consultoria Legislativa (**2004**), Brasília – Brasil

LYND, L.R.; WEIMER, P.J.; ZYL, W.H.V. & PRETORIUS, I.S. (2002) Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. Microbiology And Molecular Biology Reviews. v. 66, n. 3, p. 506–577.

LYND, L.R.; ZYL, W.H. V.; MCBRIDE, J. & LASER M. (2005) Consolidated Bioprocessing of Cellulosic Biomass: an Update. Biotechnology, v.16, p.577–583.

MA, F.; HANNA, M.A., *Biodiesel production: a review*, Bioresource Technology 70 (**1999**) 1-15

MA, F.; CLEMENTS, L.D.; HANNA, M.A., *The effect of mixing on transesterification of beef tallow*, Bioresource Technology 69 (**1999**) 289-293

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2005) *Plano nacional de agroenergia*. Brasília: MAPA, p. 118. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br. Acesso: setembro./2009.

MAST, T. *Let's Stop Procrastinating on Alternatives to Oil. Energy*. Outono, (2005) p. 45-47.

McMILLAN, J. (2004) Biotechnological Routes to Biomass Conversion. Disponível em: www.nrel.gov/docs/gen/fy04/36831g.pdf. Acesso: fev./2006.

MENEZES, T.J.B. e AGUIAR, L.C. (2002) *Conversão Enzimática do Bagaço de Cana-de-Açúcar*. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, n. 16 Maio-Junho.

MONTEIRO Jr., N., *Uma estratégia de substituição de diesel importado por biodiesel e suas eventuais implicações*, Dissertação de Mestrado, Escola de Química / UFRJ (**2005**), Rio de Janeiro – Brasil

MUSSATTO, I.S. & ROBERTO, I.C. (2002) *Produção Biotecnológica de Xilitol a Partir da Palha de Arroz*. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento. 28: 24-39

NAE - Núcleo de Assuntos Estratégicos da Presidência da República. Biocombustíveis (2005) Cadernos NAE, Processos Estratégicos de Longo Prazo, n.2, p.233. Brasília. Disponível em: www.planalto.gov.br/secom/nae. Acesso: abr2006.

NEUREITER, M.; DANNER, H.; THOMASSER, C.; SAIDI, B. & BRAUN R. (2002) Diluite-Acid *Hydrolysis of Sugarcane Bagasse at Varying Conditions. Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 98-100, p. 49-58.

NIGAM, J.N. (2001). Ethanol production from hardwood spent sulfite liquor using na adapted strain of *Pichia stipitis.* Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, v. 26, p. 145-150.

OBSERVATORIO AGROCADENAS COLOMBIA. (2006). La industria de aceites y grasas em Colombia, In: Agroindustria y competitividad. Estructura y dinámica en Colombia 1992–2005. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural - IICA,Bogotá, pp. 29–94.

OLSSON, L. & HAHN-HÄGERDAL, B. (1996) *Fermentation of Lignocellulosic Hydrolisates for Ethanol Production. Enzyme* Microbial Technology, v. 18, p. 312 – 331.

PALMQVIST, E. & HAHN-HÄGERDAL, B. (2000a) *Fermentation of Lignocellulosic Hydrolysates. I:* Inhibition and Detoxification. Bioresource Technology, v. 74, p. 17-24.

PALMQVIST, E. & HAHN-HÄGERDAL, B. (2000b) *Fermentation of Lignocellulosic Hydrolysates. II*: Inhibitors and Mechanisms of Inhibition. Bioresource Technology, v. 74, p. 25-33.

PAN, X.; XIE, D.; GILKES, N.; GREGG, D.J. & SADDLER, N.J. (2005) *Strategies to Enhance the Enzymatic Hydrolysis of Pretreated Softwood with High Residual Lignin Content*. Applied Biochemistry and Biotechnology, v.121-124, p. 1069-1079.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.E. & SOCCOL, V.T. (2000) *Biotechnological Potential of Agro-industrial Residues* I: Sugarcane Bagasse. Bioresource Technology, vol. 74, n. 1, p. 69-80.

PAPATHEOFANUS, M.G; BILLA, E.; KOULLAS, D.P; MONTIES, B. & KOUKIOS, E.G. (1995) *Two-Stage Acid-catalyzed Fractionaction of Lignocellulosic Biomass in Aqueous Ethanol Systems at Low Temperatures*. Bioresourse Technology, v. 54, p. 305-310.

PARAJÓ, J.C; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J.M. (1998[A]). Biotechnological Production of xilitol. Part I: interest of xilitol and fundamentals of its biosynthesis. Bioresource Technology, v. 65, n. 3, p. 191-201.

PARAJÓ, J.C; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J.M. (1998[B]). Biotechnological Production of xilitol. Part III: Operation in culture media made from lignocellulose hydrolysates. Bioresource Technology, v. 66, p. 25-40.

PEREIRA Jr., N. (1991) *Investigation of D-xylose Fermenting Yeast*. Ph.D. Thesis. Deparment of Chemistry. The University of Manchester, U.K.

PEREIRA Jr., N. (2006) Palestra II: *Biotecnologia de Lignocelulósicos e o contexto de Biorrefineria Associado*. XVI Congresso Brasileiro de Engenharia Química (COBEQ). 24-27 Setembro de 2006.

PERGENTINO, R., *Uma estratégia de substituição de diesel importado por biodiesel e suas eventuais implicações*, Dissertação de Mestrado, Escola de Química / UFRJ (**2005**), Rio de Janeiro – Brasil

POUTANEN, K.; PLUS, J.; NIEMELÃ, K.; BUCHERT, J. (1990), Improvement in the fermentability of steamed hemicellulose hydrolisate by íon exclusion. Process Biochemistry International, October, p. 176-180.

RAMOS, L. P. Acesso em 2009, disponível em Biodiesel BR.

RAMU, S.; LINGAIAH, N.; DEVI, B.L.A.P.; PRASAD, R.B.N.; SURYANARAYANA, I.; PRASAD, P.S.S, *Esterification of palmitic acid with methanol over tungsten oxide supported on zirconia solid acid catalysts: effect of method of preparation of the catalyst on its structural stability and reactivity*, Applied Catalysis A: General 276, (**2004**), 163-168

RIOU, C. et al. (1998) Purification, Characterization and Substrate Specificity of a Novel Highly Glucose-tolerant ß-glucosidase from Aspergillus oryzae. Applied and Enviromental Microbiology. v. 64, n. 10, p. 3607-3614.

RODRÍGUEZ-GHONG, A.; RAMÍREZ, J.A; GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M.(2004). Hydrolysis of sugar cane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. Journal of food Engineering, v. 61, p. 143-152.

SÁ, M.C.A. (1993). Efeito do grau de aeração na produção de xilitol por bioconversão. Dissertação de Tese de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

SANTOS, R. T. P.; TANAPES, N. C. O.; JOÃO, R. R.; CRUZ, I. O.; CAMACHO, L.; MONTEIRO, R. S.; ANTUNES, O. A. C.; ARANDA, D. A. G. Esterificação heterogênea para produção de biodiesel: estudo cinético. In: Anais do 13 º Congresso Brasileiro de Catálise/3º Congresso de Catálise do Mercosul, 2005.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U.S.; AQUARIBE, E. & BORZANI, W. (2001) *Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica*, v. 2. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 1 edição. 541 p.

SCHUCHARDT, U. & RIBEIRO, M.L. *A indústria petroquímica no próximo século: como substituir o petróleo como matéria-prima?*. Química Nova, v. 24, n. 2, (2001) p. 247-251.

SEWALT, V.J.H.; BEAUCHEMIN K.A.; RODE L.M.; ACHARYA, S. & BARON, V.S. (1997) *Lignin Impact on Fiber Degradation. IV. Enzymatic Saccharification and in vitro Digestibility of Alfalfa and Grasses Following Selective Solvent Deslignification*. Bioresourse Technology, v, 61, p.199-206.

SHLESER, R. (1994) *Ethanol Production in Hawaii: Processes, Feedstocks and Current Economic Feasibility of Fuel Grade Ethanol Production in Hawaii*. Disponível em: www.hawaii.gov. Acessado: novembro/2008.

SIVERS, M.V. & ZACCHI, G. (1996) Ethanol from Lignocellulosics: A Review of the Economy. Bioresourse Technology, v.56. p. 134-140.

SOMAVILLA, C. & GOMES NETO, E.H. (2005) *Etanol e as Células Combustíveis. Brasil H2 Fuel Cell Energy*. Disponível em: http://www.celulaacombustivel.com.br. Acessado: dezembro/2008.

SRIVASTAVA, A.; PRASAD, R., *Triglycerides-based diesel fuels*, Renewable and Sustainable Energy Reviews 4 (**2000**) 111-133

SUN, Y. & CHENG, J. (2002) *Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production:* a Review. Bioresource Technology, v. 83, n. 1, p. 1-11.

TIDEI, C. (2002) O futuro energético. Jornal da Unicamp. Disponível em: http://www.unicamp.br/unicamp. Acessado: junho/2007.

USDA – United States Department of Agriculture. (2009a). Disponível em: http://www.fas.usda.gov/wap/circular/2009/09-04/productionfull04-09.pdf. Acesso em: 12 jun. 2009.

VÁSQUEZ, M.P.; DA SILVA, J. N. C.; DE SOUZA Jr., M.B. e PEREIRA Jr., N. (2007) Enzymatic Hydrolysis Optimization to Ethanol Production by Simultaneous Saccharification and Fermentation. Applied Biochemistry and Biotechnology, v. 137-140, issues 12.

Wan Zahari, M., Alimon, A.R., 2004. Use of palm kernel cake and oil palm by-products in compound feed. Palm Oil Developments 40, 5–9.

WINGREN, A.; GALBE, M. & ZACCHI, G. (2003) *Techno-Economic Evaluation of Producing Ethanol from Softwood: Comparison of SSF and SHF and Identification of Bottlenecks. Biotechnology Progress*, v. 19, p. 1109-1117.

YUNG, R.A. & ROWELL, R.M. (1986) *Cellulose Structure. Modification and Hydrolysis*. University of Wisconsin, Madison, Wisconsin.

ZHANG, Y.H.P. & LYND, L.R. (2004) Toward an Aggregated Understanding of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: Noncomplexed Cellulase Systems. Biotechnology and Bioengineering, v. 88, n. 7, p. 797-824.

## Páginas da Internet

SHLESER, R. (1994) *Ethanol Production in Hawaii*. Disponível na internet via: http://www.hawaii.gov/dbedt/ert/ethanol. Arquivo consultado Janeiro 2009

Portal BiodieselBr, *http://www.biodieselbr.com*, último acesso em setembro de 2009

PORTAL BIODIESELBR. www.biodieselbr.com. Visitado em 03 de Agosto de 2009, às 19:00h.

EUROPEAN BIODIESEL BOARD, *http://www.ebb-eu.org/biodiesel.php*, último acesso em julho de 2008

PORTAL Ambiente Brasil, *http://www.ambientebrasil.com.br/composer.php3?base=./energia/index.html&conteudo=./energia/artigos/bio_diesel_massa.html*, último acesso em agosto de 2007