

UFSCar – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CCET – CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DQ – DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Monografia em Química

***Processo Produtivo de Etanol de Segunda Geração e seus
Aspectos***

Aluno: Rafael Buoro

Curso: Bacharelado em Química

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Samuel Schwab

Co-orientadoras: Dra. Marília Gabriela Branquinho Balduino

Dra. Natalia Paganini Marques

SÃO CARLOS

Junho de 2021

UFSCar – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CCET – CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DQ – DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Rafael Buoro

***Processo Produtivo de Etanol de Segunda Geração e seus
Aspectos***

Monografia apresentada ao Departamento de Química
da Universidade Federal de São Carlos, como
parte dos requisitos para a obtenção
do título de Bacharel em Química.

SÃO CARLOS
Junho de 2021

Resumo

O presente trabalho contempla uma série de informações, cujas fontes teóricas são dissertações, teses, livros didáticos, artigos científicos sobre os processos envolvidos na produção de etanol de segunda geração, a partir de vias catalíticas (ácida e enzimática), além de fermentação alcoólica dos açúcares obtidos utilizando levedura geneticamente modificada. Também são apresentadas algumas das condições em relação a produção, em escala industrial, do etanol de segunda geração (E2G).

Sumário

| | |
|---|----|
| 1. O Etanol de Segunda Geração | 1 |
| 2. Matéria Prima | 2 |
| 2.1. Estrutura do bagaço de cana de açúcar | 3 |
| 3. Processo Produtivo | 4 |
| 3.1. Hidrólise Ácida | 5 |
| 3.2. Separação da xilose do substrato enzimático (C5-C6)..... | 7 |
| 3.3. Hidrólise Enzimática | 8 |
| 3.3.1. Celulases..... | 9 |
| 3.3.2. Coquetéis Enzimáticos | 10 |
| 3.4. Separação Glicose - Lignina | 13 |
| 3.4.1. Lignina | 13 |
| 3.5. Evaporação | 15 |
| 3.6. Fermentação | 16 |
| 4. Conclusão | 19 |
| 5. Referências Bibliográficas | 20 |

1. O Etanol de Segunda Geração

Devido a crescente atenção que os biocombustíveis ganharam, como alternativa aos impactos ambientais causados pela queima de combustíveis fósseis nas últimas décadas, os processos envolvendo a produção de etanol combustível a partir de diferentes fontes de biomassa têm ganhado destaque, uma vez que esse combustível líquido pode ser produzido a partir de fontes renováveis e se tornou uma alternativa consciente a utilização de recursos naturais. (MUSSATTO *et al.*, 2010; ROMANI *et al.*, 2012)

No Brasil, o principal biocombustível utilizado é o etanol, sendo o país um dos maiores produtores e também maior exportador do produto. A tecnologia utilizada no país é referência mundial em termos de alternativas aos combustíveis fósseis. O desenvolvimento de tecnologias para produção de “bioetanol” a partir de materiais lignocelulósicos mostra-se promissor devido às várias vantagens da utilização de biomassa residual para produção de etanol de segunda geração. (KIM e DALE, 2004)

A biomassa lignocelulósica tem sido uma das principais fontes de geração de açúcares fermentescíveis para produção de etanol. Avanços significativos foram feitos em direção à tecnologia de fermentação para conversão de xilose (açúcar obtido por processo de hidrólise ácida a partir da fibra de material lignocelulósico) em etanol, da enzima celulase utilizada na hidrólise de materiais lignocelulósicos, na sacarificação e fermentação simultâneas e na posterior conversão de açúcar em etanol.

Diferentemente do processo de fabricação do chamado etanol de primeira geração (E1G), onde o caldo e o melaço obtidos a partir do processamento da cana de açúcar vão diretamente para a fermentação, o processo para produção desse biocombustível necessita de algumas mudanças e pré-processos para tornar os açúcares biodisponíveis para as leveduras e também, estas devem ser geneticamente modificadas para que possam consumir todo o açúcar disponível e tornar o processo viável e rentável.

As pesquisas e aplicações visando produzir etanol de segunda geração (E2G) no país até o momento partem das empresas do setor sucroalcooleiro, sendo elas a GranBio (PE), a Raízen (SP), ambas em escala industrial e o Centro de Tecnologia Canavieira – CTC (SP), em escala piloto. Somadas, essas empresas possuem plantas com uma capacidade instalada para a produção de 125 milhões de litros de E2G por ano (ver Tabela 1), o que torna o Brasil o quarto país do mundo em capacidade

instalada para a produção de etanol de segunda geração, atrás somente dos Estados Unidos, China e Canadá.

Entretanto, apenas uma parte desse potencial anual foi produzida até agora, e o maior problema para a operação dessas plantas ainda são dificuldades na etapa de pré-tratamento. Mais de uma vez essas usinas tiveram suas atividades paralisadas devido a problemas com o pré-tratamento do material, o que adiou suas expectativas e criou uma grande incerteza com relação ao futuro do etanol. (Adaptado de: LORENZI; ANDRADE, 2019).

Tabela 1: Principais Iniciativas de Produção de E2G no Brasil

| <i>Empresa/Variável</i> | <i>GranBio</i> | <i>Raízen</i> | <i>CTC</i> |
|----------------------------------|---|--------------------------------------|--|
| Capacidade da planta | 82 milhões de litros/ano | 40 milhões de litros/ano | 3 milhões de litros/ano |
| Tipo | Comercial | Comercial | Piloto |
| Local | São Miguel dos Campos (AL) | Piracicaba (SP) | São Manoel (SP) |
| Custo da planta | R\$ 350 milhões (US\$ 190 milhões) | R\$ 231 milhões | R\$ 80 milhões |
| Financiamento (BNDES)* | R\$1,225 bilhão (R\$600 milhões via participação acionária) | R\$ 207 milhões | R\$ 380 milhões (300 milhões via participação acionária) |
| Tecnologia processo | Proesa (Beta Renewables, – italiana) | logen (logen Corporation, canadense) | Própria (CTC) |
| Hidrólise (enzimas) | Novozymes (dinamarquesa) | Novozymes (dinamarquesa) | Novozymes (dinamarquesa) e própria |
| Fermentação (leveduras)** | C5 e C6 (DSM, holandesa) | C5 e C6 (logen, canadense) | Apenas C6 (própria) |
| Pré-tratamento | Hidrotérmico (Proesa, API) | Explosão a vapor (logen) | Vapor e catalisadores (própria) |
| Matéria-prima | Bagaço (cana-energia) e palha | Bagaço | Bagaço e palha |

Fonte: Santos et al, 2012

Atualmente, a planta de E2G da Raízen é a única com produção em escala industrial em atividade, produzindo cerca de 120m³ diários e tem meta estipulada para produção de 30 milhões de litros até o final da safra 21’22. O que corresponde à 75% da capacidade total da planta.

2. Matéria Prima

Existem várias fontes de recursos de biomassa no mundo, que podem ser agrupadas em quatro categorias. Os resíduos de madeira são de longe a maior fonte atual de biomassa para a produção de energia. Vem da indústria de produtos de madeira, que inclui fábricas de papel, serrarias e fabricação de móveis. Entre esses recursos de biomassa, incluindo culturas lenhosas de curta rotação e culturas herbáceas, principalmente gramíneas altas, as culturas de energia dedicada, tais como a cana de açúcar parecem ser o maior e mais promissor recurso futuro de biomassa. Isso se deve à capacidade de obter inúmeras colheitas em um único plantio, o que reduz significativamente os custos médios anuais para o

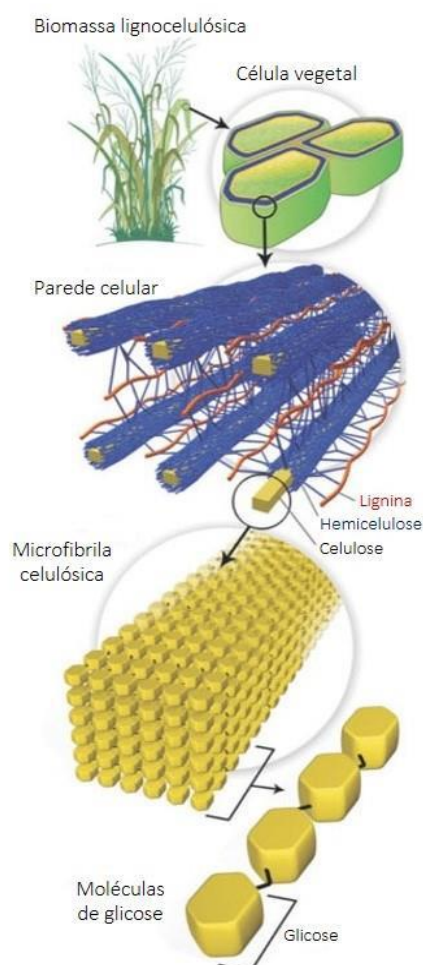
estabelecimento e manejo de culturas energéticas, particularmente em comparação com as culturas convencionais (Monique et al. 2003).

Devido ao seu alto potencial energético o bagaço de cana de açúcar é largamente empregado na queima nas caldeiras das usinas sucroalcooleiras o que fecha uma parte do ciclo de carbono. Porém como muita dessa biomassa sobra nos pátios das usinas, criou-se um interesse em desenvolver a tecnologia necessária para tornar o processo em larga escala viável e aproveitando-se das convenções de redução de emissões de carbono para a atmosfera, fechar ainda mais o ciclo de carbono da cana de açúcar.

2.1. Estrutura do bagaço de cana de açúcar

O bagaço de cana de açúcar é composto por cerca de 45% de celulose, 35% hemicelulose, 15% lignina (este por sua vez contém o poder calorífico dessa biomassa) e 5% de cinzas inorgânicas.

Figura 2: Estrutura da fibra de material lignocelulósico.



Fonte: Adaptado de Santos et al, 2012

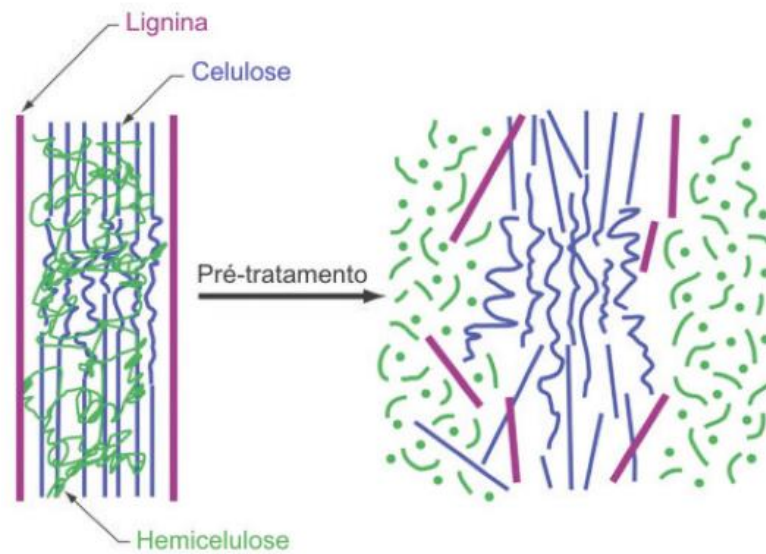
Basicamente, a biomassa celulósica é composta de cadeias de celulose (polissacarídeo formado por moléculas de glicose ligadas através de ligações β -1,4-glicosídicas) unidas entre si por ligações de hidrogênio. Essas longas fibras celulósicas são, por sua vez, recobertas por hemiceluloses (polissacarídeos ramificados formados principalmente por *D*-xilose com pequenas quantidades de *L*-arabinose, *D*-glicose, *D*-manose, *D*-galactose, ácido glucurônico e ácido manurônico) e ligninas (redes poliméricas tridimensionais formadas por unidades fenilpropano interligadas) (Wyman, 2005). Por ser uma cadeia polimérica estável essa fibra necessita de um processo chamado pré tratamento para que haja o rompimento dessas fibras e posterior hidrólise das cadeias de celulose e hemicelulose, sendo convertidas à glicose e xilose, respectivamente. Podemos então evidenciar que o processo de produção de etanol de segunda geração envolve dois processos, o de conversão de polissacarídeos em mono e dissacarídeos e a fermentação desses açúcares para a obtenção do etanol.

3. Processo Produtivo

Uma vez que a fibra do bagaço é muito estável devido as cadeias cristalinas da celulose, as ligações covalentes entre as estruturas de hemicelulose e das estruturas das ligninas, a primeira etapa do processo consiste em romper o máximo possível dessas fibras, mecanicamente, facilitando assim o processo de hidrólise.

Como os produtos majoritários obtidos através do processamento do bagaço de cana de açúcar são a xilose e a glicose, vamos trabalhar apenas com seus processos e considerar que os outros açúcares são obtidos em concentrações que não são observadas no processo. A celulose será considerada como glicana, um polímero de glicoses (hexose) e a hemicelulose como xilana, como um polímero de xiloses, mesmo sabendo que ela é um oligômero constituído por xiloses e manoses (pentoses).

Figura 3: Rompimento das fibras da biomassa lignocelulósica



Fonte: Adaptado de Santos et al, 2012

3.1. Hidrólise Ácida

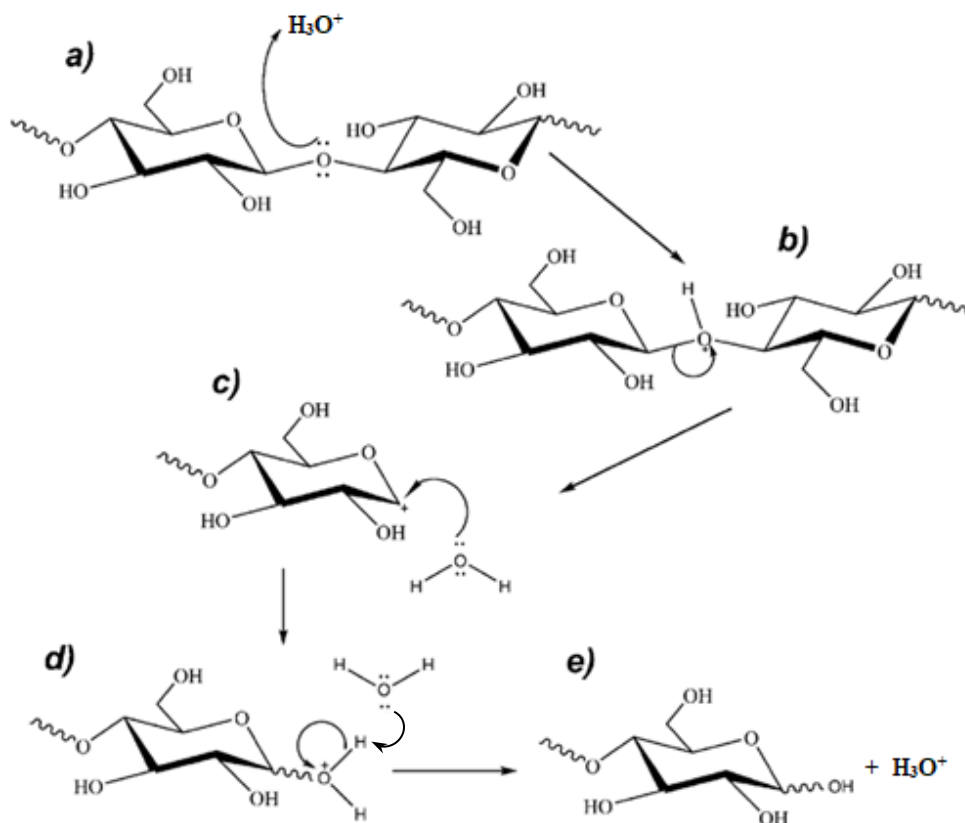
Nessa fase do processo acontece a diluição do ácido sulfúrico em água à quente e adição do bagaço, afim de atingir a consistência desejada, esse procedimento é denominado embebição ácida. Essa “mistura” é enfim bombeada para uma rosca prensa, onde ocorre o rompimento físico das fibras através do afunilamento do bagaço no cone do equipamento. Esse processo ocorre sob pressão, visto que esse é um dos fatores necessários para garantir a efetividade do processo.

O líquido extraído nessa fase retorna para o tanque inicial afim de garantir economia de ácido e fluxo de precesso.

Após essa etapa, o bagaço com as fibras já rompidas, encontra uma fonte de vapor saturado em contrafluxo e passa novamente por uma rosca prensa afim de iniciar o processo de hidrólise, esse equipamento é chamado *speed heater*. Então o bagaço “cozinha” dentro de um reator por um determinado tempo e efetiva-se a hidrólise da xilana, de acordo com o mecanismo mostrado na Figura 5.

O mesmo ocorre com a glicana, porém em quantidade mínima, visto que em virtude da natureza cristalina da celulose, essa necessita de maior energia para hidrolisar então há a necessidade de utilização de coquetéis de enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas para a efetivação dessa reação.

Figura 5: Mecanismo da reação de hidrólise da xilana à xilose



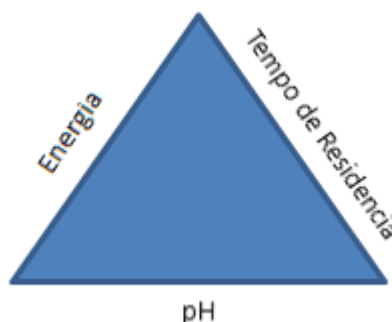
Fonte: Adaptado de Ogeda, Petri, 2010

Para que a hidrólise da xilana aconteça com rendimentos elevados precisamos dos três pilares do pré tratamento bem alinhados. Primeiro, a energia (ou temperatura), fornecida pelo vapor superaquecido inserido no *speed heater*. Como a estabilidade dessa cadeia carbônica é muito alta, há necessidade de fornecimento de muita energia para atingir a energia de ativação dessa reação.

Segundo, o pH, advindo da mistura do bagaço com ácido diluído no tanque de embebição ácida. A adição de ácido é necessária para catalisar a reação de hidrólise, visto que para rompimento das ligações entre as cadeias da xilana precisa-se de uma protonação do oxigênio que liga as cadeias de xilose (**a**), seguida de uma eliminação da molécula de xilose (**b**), na sequência ocorre um ataque ao carbocátion por uma molécula de água (**c**) levando assim a formação de uma hidroxila após sua desprotonação (**d**), estabilizando a molécula de xilose gerada, regenerando o ácido que catalisa a reação e dando continuidade no processo de hidrólise.

Terceiro, o tempo de residência, que é o tempo que o bagaço passa “cozinhando” dentro do reator. Esse é o tempo necessário para que grande parte do substrato seja consumida, porém esse tempo deve ser controlado para a reação de degradação da glicose e xilose à 2-furaldeído (furfural) e o 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) e aconteça o mínimo possível, visto que esses produtos são prejudiciais ao processo de fermentação.

Figura 6: Pilares do pré tratamento



Então, para que a reação de hidrólise ácida cesse, são aplicados dois processos de descompressão rápida em “tambores” chamados *flash* e adicionado hidróxido para ajustar o pH e neutralizar o ácido sulfúrico.

3.2. Separação da xilose do substrato enzimático (C5-C6)

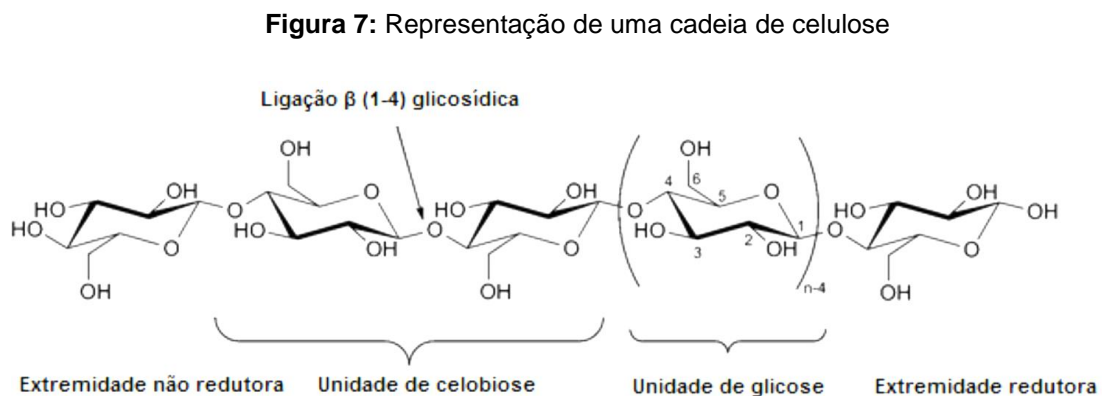
Denominamos separação C5-C6 a separação da xilose (pentose – 5 carbonos) obtida no pré tratamento, da glicana, substrato celulósico a ser reagido no processo de hidrólise enzimática, na próxima etapa do processo e que originará a glicose (hexose – 6 carbonos).

Essa polpa rica em xilose vai para centrifugas e onde é lavada várias vezes para a retirada da maior quantidade possível de xilose, visto que essa é prejudicial para a fase de hidrólise enzimática. Então essa polpa “lavada” é rediluída e adiciona-se o coquetel enzimático que irá converter a glicana em glicose.

3.3. Hidrólise Enzimática

A hidrólise enzimática é a etapa chave para a conversão da biomassa lignocelulósica em biocombustíveis e outros produtos de valor agregado. O processo de hidrólise enzimática é afetado por vários fatores relacionados ao substrato, à enzima, à presença de inibidores e ao meio reacional.

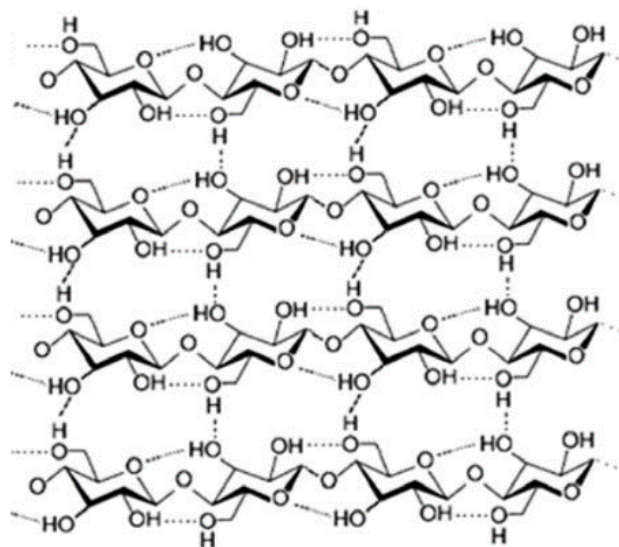
Dado que a celulose é um homopolissacarídeo linear onde as unidades de glicose combinam-se para formar um dissacarídeo de celobiose através de ligações do tipo β -1,4 glicosídicas, Figura 7, essa estrutura linear, conferida pela configuração das ligações glicosídicas, possibilita a formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, o que resulta na agregação das cadeias celulósicas em “microfibrilas elementares”. (Marques, 2017)



Fonte: Adaptado de Marques, 2017

A associação dessas microfibrilas, Figura 8, formam as macrofibrilas e assim dão a estrutura cristalina a celulose.

Figura 8: Rede de ligações de hidrogênio em microfibrilas de celulose



Fonte: Adaptado de Marques, 2017

Devido a essa estrutura cristalina há necessidade de grande quantidade de energia para rompimento de todas essas ligações e obtenção do monômero de glicose. Esse processo poderia demorar semanas se fosse feito utilizando-se catalisadores comuns, então para que o processo industrial seja viável precisamos fazer uso de um catalisador biológico, as enzimas, mais especificamente as celulasas.

3.3.1. Celulasas

Ao contrário do que muitas pessoas acreditam, as enzimas não são organismos vivos. Elas são cadeias proteicas obtidas a partir de organismos vivos ou sintetizadas para ter a mesma função “natural” que têm nesses organismos.

As celulasas têm papel de destaque entre as diversas enzimas utilizadas na indústria, sendo aplicadas em vários segmentos industriais como alimentos, em processos de fermentação de álcool de grãos, fabricação de cerveja e vinhos, extração de sucos de frutas e vegetais, além de alimentação animal. Também são utilizadas nas indústrias de papel e celulose e têxtil. Nos últimos anos, o potencial dessas enzimas para sacarificar a celulose presente nos resíduos lignocelulósicos tem sido amplamente estudado, visando a obtenção de glicose para a produção de etanol celulósico. (CAVKA et al., 2014; NEVES; PITARELO; RAMOS, 2016; VISHWAKARMA; BANERJEE, 2016).

3.3.2. Coquetéis Enzimáticos

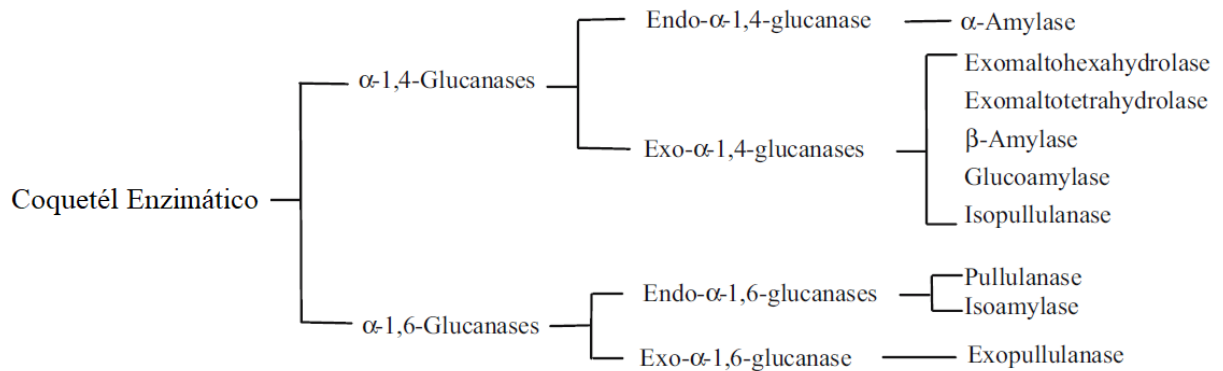
Dada a complexidade das paredes celulares das plantas, a maioria dos organismos que degradam a celulose, bem como os demais polissacarídeos da biomassa vegetal, necessitam de diversas enzimas com função sinérgica. Diversos organismos, em todos os reinos, ao longo da evolução, desenvolveram seus “coquetéis enzimáticos” internos para a que conseguissem converter celulose em açúcares solúveis, para utilizá-los como sua fonte de energia. (MARTINEZ et al., 2008)

Vários microrganismos presentes na natureza são conhecidos por produzir celulases, entre os quais destacam-se os fungos. Considerados microrganismos dominantes na reciclagem de celulose na natureza, o isolamento desses microrganismos que degradam a celulose em diferentes habitats, é uma metodologia crucial para obtenção de novas celulases com características únicas. As celulases industriais são em suma produzidas a partir de fungos filamentosos dos gêneros *Trichoderma* e *Aspergillus* selvagens ou modificados geneticamente. Com o passar dos anos, a pesquisa para obtenção de celulases com maior atividade intensificou-se, seja pelo isolamento de novos microrganismos produtores, como pela identificação de proteínas denominadas expansivas, que causam afrouxamento na parede celular vegetal, permitindo que a fibra se torne mais acessível às enzimas. (Marques, 2017)

Celulases pertencem ao grupo das O-Glicosil hidrolases clivam as ligações β -1,4-glicosídicas de celulose por meio de catálise ácida ou básica. Elas são agrupadas em famílias com base na sua sequência de aminoácidos e na análise de agrupamento hidrofóbico. (HENRISSAT; BAIROCH, 1993; PALOMARES-RIUS et al., 2014).

O sistema biocatalítico microbiano é composto por enzimas que atuam sinergicamente e mesmo que haja variação nas propriedades das enzimas o sistema de degradação da celulose é bastante similar. Esse “sistema” enzimático, Figura 9, é composto principalmente pelas hidrolases *endo*- β -(1,4)-glicanases, *exo*- β -(1,4)-D-glicanases ou celobiohidrolases e β -D-glicosidases. As β -glicosidases não são referidas, frequentemente, como celulases reais já que elas hidrolisam as ligações glicosídicas de oligossacarídeos solúveis ou celobiose, não atuando assim na celulose propriamente dita.

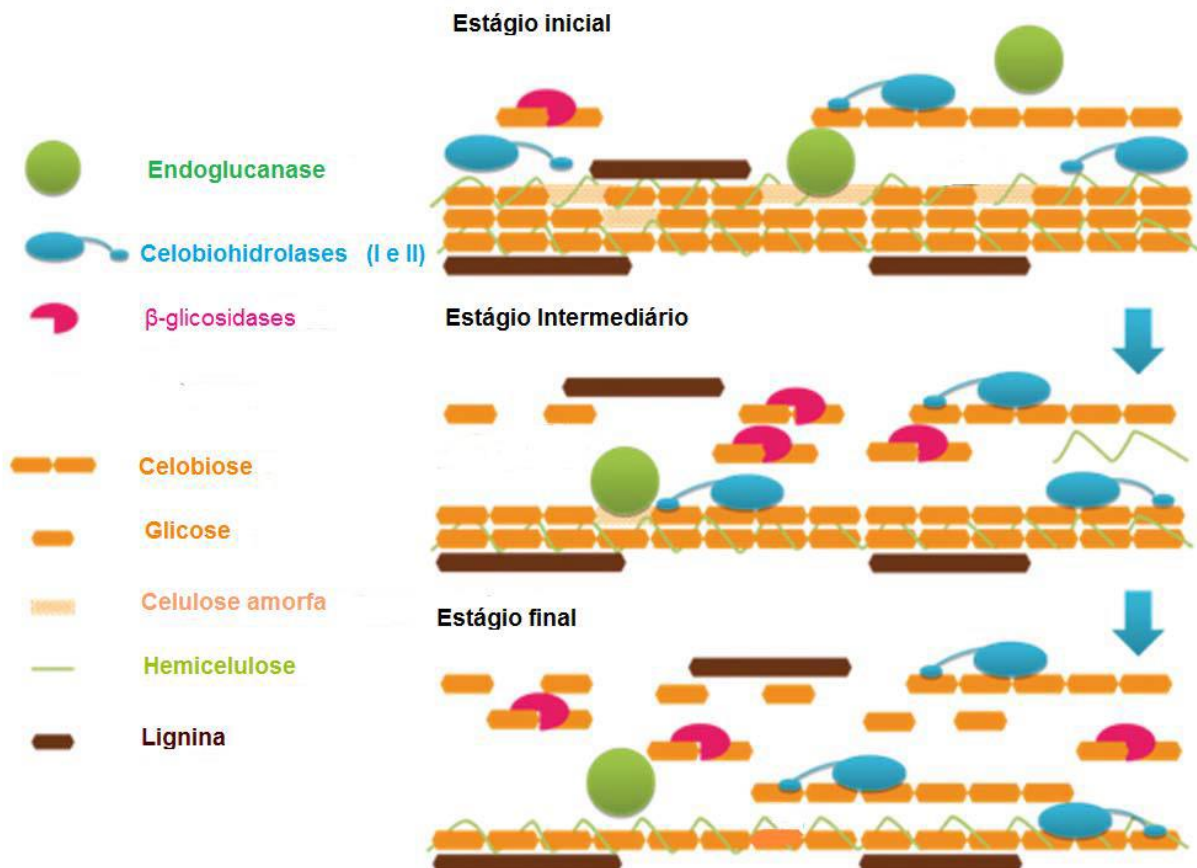
Figura 9: Classe de enzimas presentes nos coquetéis enzimáticos



Fonte: Adaptado de Lin; Shuzo, 2006

As endoglucanases hidrolisam aleatoriamente as ligações β -1,4-glicosídicas intramoleculares da cadeia de celulose, preferencialmente em sua região amorfa, produzindo novas extremidades na cadeia. As exoglucanases clivam processualmente as cadeias de celulose, a partir dessas extremidades, liberando celobiose solúvel ou glicose e por fim as β -glicosidases hidrolisam a celobiose à glicose, Figura 10.

Figura 10: Processo de hidrólise dos coquetéis enzimáticos



Fonte: Adaptado de Marques, 2017

Estes três processos de hidrólise ocorrem simultaneamente, como visto na Figura 10. A hidrólise primária, que ocorre na superfície de substratos sólidos pela ação das endoglucanases e exoglucanases, libera açúcares solúveis na fase líquida, os quais apresentam menor grau de polimerização. A hidrólise secundária, que ocorre na fase líquida, envolve principalmente a hidrólise da celobiose a glicose pelas β -glicosidases. (Marques, 2017)

Para que essa reação ocorra com alta eficiência, as condições de processo devem ser bem controladas, pois como as enzimas são proteínas (que contêm os sítios ativos reacionais), elas têm condições ótimas para que tenham a maior atividade catalítica possível e também para que não sejam desnaturadas. São controlados precisamente, além da dosagem enzimática: temperatura, agitação, quantidade de substrato, pH, aeração e tempo.

Como o coquetel enzimático utilizado no processo é comprado de um fornecedor externo e as enzimas são purificadas antes de serem misturadas, para que haja maior estabilização, elas são condicionadas em uma solução contendo majoritariamente glicose, pois essa (como é o produto final da hidrólise), além de ajudar a manter os sítios ativos das enzimas, também não interfere nas próximas etapas do processo, evitando maiores gastos na separação de subprodutos ou aditivos estabilizantes.

As enzimas ficam armazenadas em *reefers* (containers refrigerados), visando também a menor degradação possível evitando a perda de atividade catalítica enquanto não entram no fluxo do processo. Com toda essa “demanda tecnológica” intrínseca às enzimas, elas são a parte mais onerosa do processo produtivo do etanol de segunda geração, chegando a representar 2/3 do valor total dos custos do processo.

O processo de hidrólise enzimática com a mistura do substrato, em linha, com a enzima, então essa “polpa diluída”, como é chamada, entra nos reatores em forma de torre denominados *plug flow reactors (PFR's)*, onde já tem início a reação, visto que boa parte das condições ideais para as enzimas já estão ajustadas. Esses reatores são alimentados pelo topo e com o auxílio da gravidade o substrato mais pesado vai fluindo para baixo. Como a reação gera glicose que é muito solúvel, essa polpa começa a ficar cada vez mais líquida, então quando se chega ao final da primeira torre esse meio reacional é bombeado novamente para outra torre e o processo se repete.

Assim, após cerca de trinta horas, essa polpa em processo de hidrólise vai efetivamente para os tanques hidrolisadores onde são feitos os últimos ajustes nas condições reacionais. Por ser um processo que necessita de um longo tempo, cerca de sessenta horas, essa parte é feita em bateladas, assim totalizando cerca de noventa horas desde a mistura do substrato (glicana separada nas sucessivas lavagens da separação C5-C6) com o coquetel enzimático, até a finalização da reação e envio para a etapa de separação glicose - lignina.

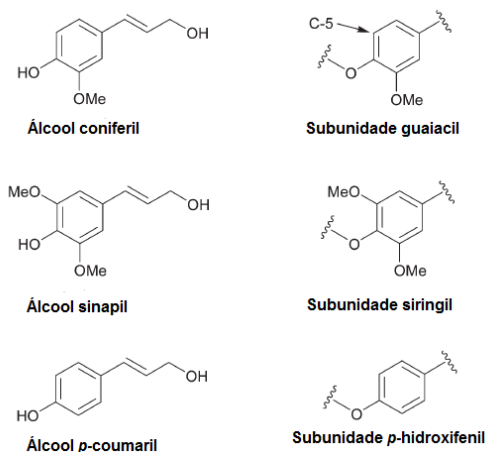
3.4. Separação Glicose - Lignina

Após a o processo de hidrólise a polpa hidrolisada passa por um processo de separação similar ao da separação da polpa bruta, no pré tratamento. Essa polpa agora é rica em glicose, xilose (advinda do resíduo de xilana não hidrolisada no pré tratamento) e lignina.

3.4.1. Lignina

A lignina é caracterizada como sendo um polímero aromático insolúvel em água presente nos tecidos vegetais, tais como o bagaço e palha de cana de açúcar lhes garantindo impermeabilização, reforço estrutural e resistência ao ataque físico e biológico. Durante o processo de crescimento e desenvolvimento dos tecidos vegetais é biossintetizada a partir de três monômeros: álcool coniferílico, sinapil e *p*-coumaril, Figura 11. Quando identificados na estrutura do polímero de lignina, as subunidades são identificadas pela sua estrutura de anel aromático, sendo identificados como subunidades de guaiacil, siringil e *p*-hidroxifenil, respectivamente. (Marques, 2017)

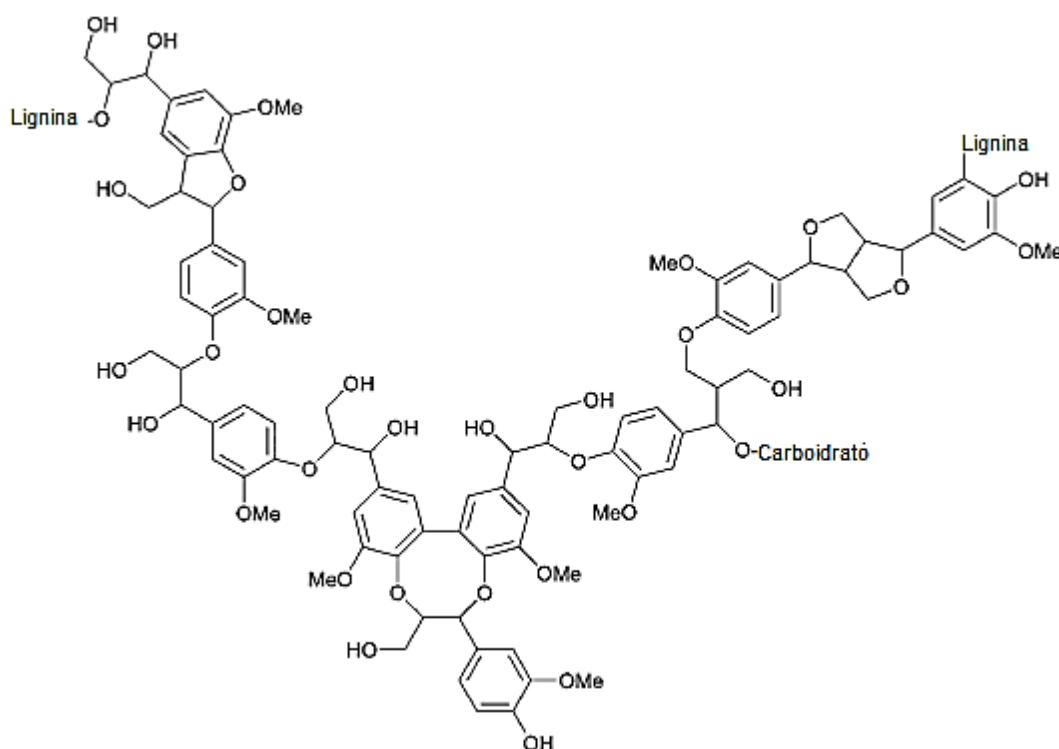
Figura 11: Principais subunidades constituintes da lignina



Fonte: Adaptado de Brandt et al., 2013

O polímero de lignina contém uma ampla gama de ligações, Figura 12. A ligação mais comum é a ligação éter β -O-4. Aproximadamente 50% de todas as ligações entre subunidades são deste tipo e levam a um alongamento linear do polímero. Outras ligações como C-O e C-C estão presentes em menor abundância, e a ramificação ocorre quando a lignificação é avançada (EL HAGE et al., 2009). A lignina é responsável por uma das principais dificuldades no processo, eficiente, de hidrólise do resíduo lignocelulósico, não só impedindo o acesso das hidrolases aos substratos, mas também ocasionando a perda de eficiência dos sítios ativos das hidrolases, o que pode ocasionar a necessidade de adição de maior quantidade de enzimas ao processo. (PAN et al., 2005).

Figura 12: Estrutura do polímero de lignina



Fonte: Adaptado de Brandt et al., 2013.

Para que haja separação eficiente, no hidrolisado, dos açúcares em solução da lignina “residual”, faz-se necessária a adição de uma solução de polímero catiônico, afim de aglutinar as moléculas de lignina e fazer com que o líquido centrifugado esteja praticamente livre da lignina ao final. Após esse processo a lignina é enviada para uma estação de secagem terceirizada e retorna, posteriormente, para o processo para ser misturada ao bagaço e queimado nas caldeiras, afim de aproveitar seu alto poder

calorífico para co-geração de energia para planta e vapor para alimentar as diversas fases do processo.

3.5. Evaporação

Após a geração e separação, da xilose (no pré tratamento) e da glicose (nos hidrolisadores) as duas correntes de processo são misturadas em um tanque que será enviado para o processo de evaporação.

Existem diversos tipos de evaporadores disponíveis na indústria, o que utilizamos no processo é o de vácuo por sistema de efeitos. Nesse processo, a evaporação reaproveita o vapor liberado após o pré tratamento (no tambor flash) e vapor gerado pela caldeira para aquecer as câmaras de evaporação.

O objetivo do processo de evaporação é concentrar a solução de açúcares pela retirada de água. O processo de evaporação difere do processo de secagem em relação ao produto. Nos evaporadores o produto é líquido, às vezes até com viscosidades altas, enquanto nos secadores o produto é sólido, como por exemplo, no processo de fabricação de açúcar que o objetivo é retirar toda a umidade até obter o açúcar sólido.

Neste caso o processo de evaporação é aplicado com três propósitos: reduzir o volume de água da solução, aumentar a estabilidade reduzindo a atividade provocada pela água e pelos contaminantes/subprodutos e também eliminar o máximo possível dos subprodutos do processo de hidrólise, tais como o 2-furaldeído (furfural) e o 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) e o ácido acético. Esse processo é controlado para que haja maior eficiência na concentração, porém tomando-se os devidos cuidados para não concentrar a solução de açúcares em demasia, pois os contaminantes também são concentrados no processo e são muito prejudiciais para o processo de fermentação. Além disso, para garantir a maior economia de processo a quantidade de água ainda presente nesse caldo concentrado é levada em conta para o preparo do mosto (solução de açúcares e nutrientes) que alimentará os fermentadores.

3.6. Fermentação

Muitos relatórios e pesquisas já foram publicadas tendo como tema a produção de etanol através do processo de fermentação utilizando microrganismos. Há uma gama enorme de microrganismos capazes de produzir etanol como produto principal seja ela por metabolismo de bactérias, leveduras ou fungos. De acordo com esses trabalhos, existem alguns microrganismos que podem gerar e sobreviver em altas concentrações de etanol (Lin; Shuzo, 2006).

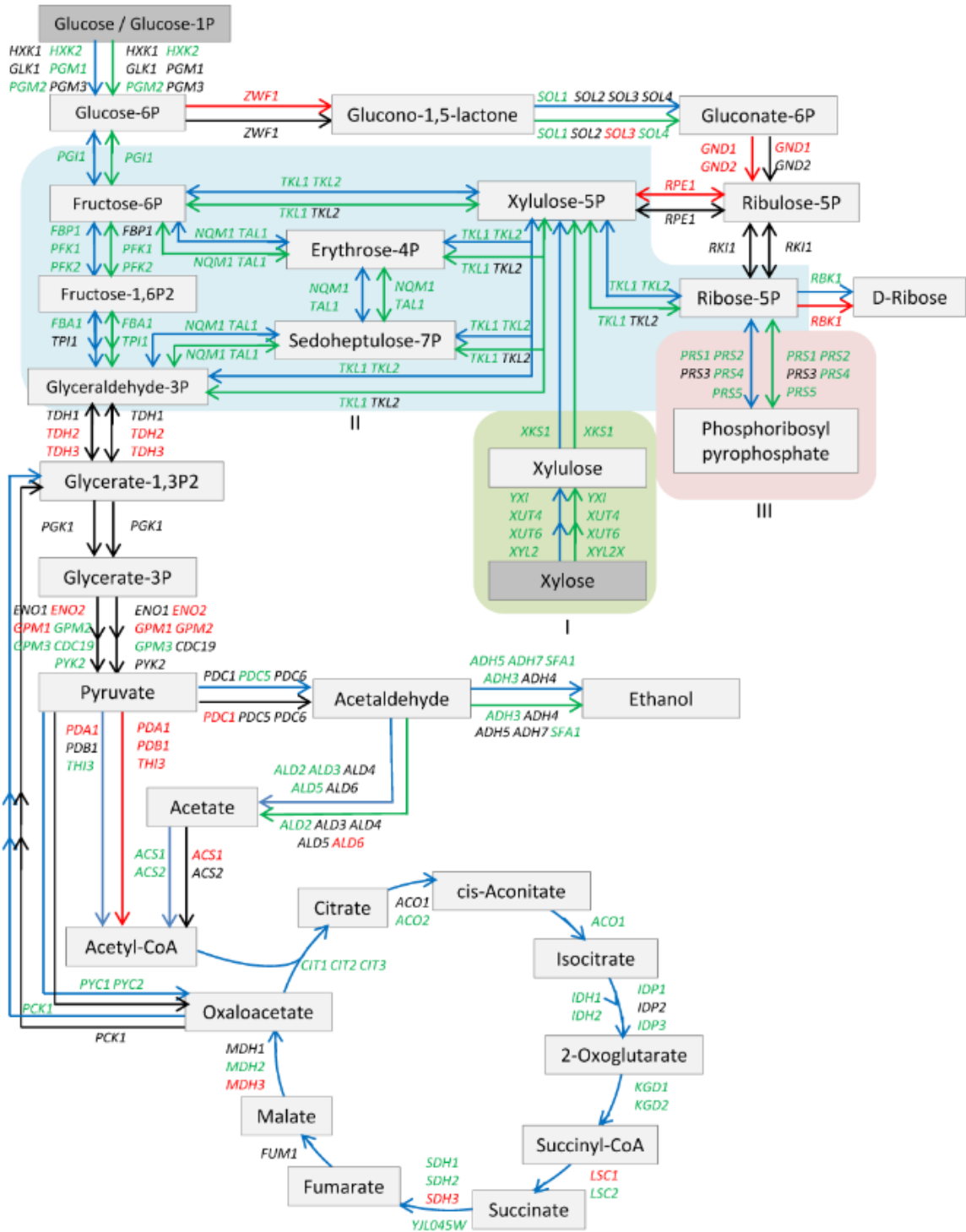
Ao longo dos anos, o microrganismo mais utilizado tem sido a levedura, dentre essas destaca-se, a *Saccharomyces cerevisiae*, que pode chegar a produzir etanol em concentração de até 18% do vinho final, logo ela é a preferida para a maioria dos processos de fermentação sejam eles exclusivamente para a produção de etanol ou não, visto que no processo de produção de cervejas, as leveduras também produzem características conhecidas como *off flavors*.

Uma outra característica dessa levedura é a de que ela pode crescer tanto em meios contendo monossacarídeos, como glicose, quanto em meios contendo dissacarídeos, como sacarose. (Lin; Shuzo, 2006).

Outro desafio encontrado na produção do etanol de segunda geração foi o de aproveitar a xilose gerada no processo de hidrólise. Nesse sentido, foi necessário utilizar a engenharia genética para desenvolvimento de uma levedura capaz de consumir esse tipo de açúcar. Vários estudos foram desenvolvidos ao longo dos anos tendo em vista maximizar os rendimentos na fermentação desse açúcar, utilizando genes de fungos e bactérias capazes de metabolizar as pentoses, no nosso caso a xilose (Feng, Liu, Weber, Li, 2018). Atualmente há vários fornecedores dessa levedura no mercado, não sendo de uso exclusivo do etanol de segunda geração.

Diferentemente do processo do etanol de primeira geração, onde o inóculo de levedura (ou pé de cuba) é preparado poucas vezes ao longo da safra devido ao reciclo da levedura através da separação da mesma do a partir do vinho a ser destilado, para cada batelada de fermentação de etanol de segunda geração há a necessidade de um novo preparo de inóculo. Tal fato se dá justamente pela engenharia genética aplicada nas leveduras. Durante alguns testes, pôde-se constatar que depois de alguns ciclos do inóculo, as leveduras perdiam a capacidade de expressar o gene responsável por conferi-las a capacidade de metabolizar xilose. O esquema metabólico dessa levedura é mostrado abaixo.

Esquema: Mapa metabólico da *Saccharomyces cerevisiae* geneticamente modificada



Fonte: Adaptado de Feng, Liu, Weber, Li, 2018.

Mesmo sendo geneticamente modificada, essa levedura ainda consome a xilose como última fonte de substrato. Assim, para utilização no processo parte-se de um microtubo contendo a levedura crio preservada e através de sucessivas “semi inoculações”, multiplica-se as leveduras em quantidades suficientes para, enfim, inocular o fermentador. Durante esse processo de crescimento de “biomassa” utiliza-se apenas mel (solução concentrada “residual” do processo de produção de açúcar alimentício, que contém sacarose, glicose, frutose e nutrientes advindos da cana de açúcar) e água como fonte de substrato para as leveduras. Esse processo acontece em meio aerado, para permitir a respiração celular e favorecer a multiplicação das leveduras, que é o objetivo nessa parte do processo.

Assim, quando se chega a quantidade suficiente de células, inocula-se o fermentador. Nessa fase do processo, o inóculo adicionado, é alimentado com a glicose e a xilose produzidas pelos processos de hidrólise e uma pequena fração de mel, que aqui só serve como fonte de nutrientes. Esse processo acontece anaerobiamente, afim de “forçar” as leveduras apenas a consumir a glicose e xilose visando a produção de etanol e evitar ao máximo a multiplicação das células.

Depois de consumido todo o açúcar esse vinho é enviado para a destilaria e segue com o processo de destilação. Uma vez que, essa parte do processo não acontece dentro da planta do E2G, acredito não ser pertinente seu desenvolvimento aprofundado, visto que é um processo relativamente simples, que consiste na fervura desse vinho e recuperação do etanol através dos condensadores de placas.

Ao contrário do que muitas pessoas acreditam, o etanol de segunda geração, não difere em nada, em termos físico-químicos, do etanol produzido por outros processos fermentativos. Seu grande diferencial é o emprego de vários conceitos tecnológicos para o aproveitamento de um “resíduo” do processo usual de produção de etanol combustível e isso sim o torna rentável e ambientalmente relevante.

4. Conclusão

Diversos avanços foram feitos no campo da biotecnologia ao longo dos anos e muitos desses foram essenciais para a criação do método de produção do etanol de segunda geração.

À primeira vista o processo produtivo pode parecer complicado, porém as respostas para como realiza-lo vieram do estudo da própria natureza, sendo muitos deles os mecanismos vitais para de sobrevivência de diversos tipos de microrganismos.

Seu custo de produção pode parecer alto tendo em vista todas as tecnologias empregadas, porém o valor agregado também será elevado, assim o torna financeiramente viável para os produtores, que cada vez mais podem conseguir investimentos para o desenvolvimento eficiente do processo.

Sendo assim, o etanol, sendo ele de primeira ou de segunda geração se mostra cada vez mais uma ótima alternativa aos combustíveis fósseis, visto que é menos poluente e fecha quase completamente o ciclo de carbono da cana de açúcar.

5. Referências Bibliográficas

BRANDT, A. et al. Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids. *Green Chemistry*, v. 15, n. 3, p. 550-583, 2013.

CAVKA, A. et al. Production of cellulosic ethanol and enzyme from waste fiber sludge using SSF, recycling of hydrolytic enzymes and yeast, and recombinant cellulase-producing *Aspergillus niger*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v. 41, n. 8, p. 1191-1200, 2014.

EL HAGE, R. et al. Characterization of milled wood lignin and ethanol organosolv lignin from miscanthus. *Polymer Degradation and Stability*, v. 94, n. 10, p. 1632-1638, 2009.

Feng, Q.; Liu, Z.L; Weber, S.A., Li S., Signature pathway expression of xylose utilization in the genetically engineered industrial yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS ONE* 13(4):e0195633, 2018.

HENRISSAT, B.; BAIROCH, A. New families in the classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemical Journal*, v. 293, n. 3, p. 781-788, 1993.

Hoogwijk, M., Faaij, A., van den Broek, R., Berndes, G., Gielen, D., & Turkenburg, W. (2003). Exploration of the ranges of the global potential of biomass for energy. *Biomass and Bioenergy*, 25(2), 119–133. doi:10.1016/s0961-9534(02)00191-5

KIM, S.; DALE, B. E. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. *Biomass and Bioenergy*, v. 26, n. 4, p. 361-375, 2004. ISSN 0961-9534.

Lin, Y; Shuzo, T. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects; *Appl Microbiol Biotechnol* (2006) 69: 627–642

LORENZI, Bruno Rossi e ANDRADE, Thales Haddad Novaes de. O ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO NO BRASIL: POLÍTICAS E REDES SOCIOTÉCNICAS. *Rev. bras. Ci. Soc.* [online]. 2019, vol.34, n.100 [visitado 2020-12-09],e3410014.

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-69092019000200510&lng=en&nrm=iso>. Epub Sep 23, 2019

Marques, N.P. Produção de Celulases por Fungos Endofíticos e Aplicação das Enzimas na Sacarificação do Bagaço de Cana-de-Açúcar, Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/152021>>.

MARTINEZ, D. et al. Genome sequencing and analysis of the biomass-degrading fungus *Trichoderma reesei* (syn. *Hypocrea jecorina*). *Nature Biotechnology*, v. 26, n. 5, p. 553-560, 2008.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; GUIMARÃES, P. M. R.; SILVA, J. P. A.; CARNEIRO, L. M.; ROBERTO, I. C.; VICENTE, A.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J. A. Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. *Biotechnology Advances*, v. 28, n. 6, p. 817-830, 2010. ISSN 0734-9750.

Ogeda, T.L; Petri, D.F.S. Hidrólise enzimática de biomassa, *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 7, 1549-1558, 2010

PAN, X. et al. Strategies to enhance the enzymatic hydrolysis of pretreated softwood with high residual lignin content. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 124, n. 1, p. 1069-1079, 2005.

SANTOS, F. A. et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. *Química Nova*, v. 35, n. 5, p.1004-1010, 2012.

Wyman, C. E.; Decker, S. R.; Himmel, M. E.; Brady, J. W.; Skopec, C. E.; Viikari, L. Em *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*; Dumitriu, S., ed.; Dekker: New York, 2005, cap. 43.