

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**ESTUDOS DE MELHORIAS NO PROCESSO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA  
DE BIOMASSAS PARA PRODUÇÃO DE ETANOL**

**Luciano Jacob Corrêa**

São Carlos - SP

2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**ESTUDOS DE MELHORIAS NO PROCESSO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA  
DE BIOMASSAS PARA PRODUÇÃO DE ETANOL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Química, área de concentração Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos.

**Luciano Jacob Corrêa**

Orientadores: Prof. Dr. Antonio José Gonçalves da Cruz

Prof. Dr. Alberto Colli Badino Júnior

São Carlos - SP

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar  
Processamento Técnico  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C824e      Corrêa, Luciano Jacob  
              Estudos de melhorias no processo de hidrólise  
              enzimática de biomassas para produção de etanol /  
              Luciano Jacob Corrêa. -- São Carlos : UFSCar, 2016.  
              113 p.

              Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São  
              Carlos, 2016.

              1. Bioetanol. 2. Tempo de mistura. 3. Hidrólise  
              enzimática. 4. Consumo de potência. 5. Batelada  
              alimentada. I. Título.

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE LUCIANO JACOB CORRÊA APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM 04 DE FEVEREIRO DE 2016.

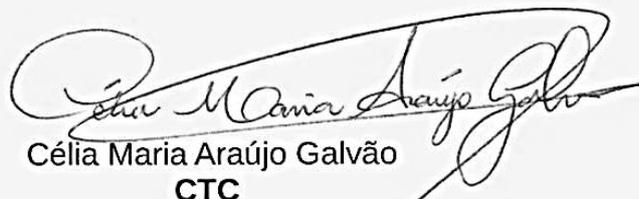
BANCA EXAMINADORA:



Antonio José Gonçalves da Cruz  
Orientador, UFSCar



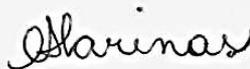
Alberto Colli Badino Junior  
Coorientador, UFSCar



Célia Maria Araújo Galvão  
CTC



Marcel Otavio Cerri  
UNESP



Cristiane Sanchez Farinas  
EMBRAPA



Rosineide Gomes da Silva Cruz  
UFSCar

Aos meus pais Airton e Naza que  
estão em “algum lugar” SEMPRE  
me iluminando!

## AGRADECIMENTOS

À Deus que me deu saúde, força e oportunidade para a realização desta conquista.

À minha irmã Denise pelo apoio, carinho, amizade e incentivo incondicional na realização dos meus sonhos.

À minha esposa, Renata Corrêa, pelo constante apoio, incentivo, amor e carinho na realização deste trabalho e no meu dia a dia.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antonio José Gonçalves da Cruz, pela confiança depositada em mim, pelos ensinamentos, orientações, amizade e incentivo durante todo o trabalho.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Alberto Colli Badino, pelo apoio, amizade e valiosos ensinamentos na realização deste trabalho.

Agradeço à Deus, por ter me proporcionado ser orientado por pessoas tão especiais. Mais do que orientadores, são e serão meus grandes exemplos na minha vida acadêmica.

Aos Técnicos do DEQ – UFSCar, especialmente ao Oscar, Adilson, Dorival, Thaís, Amadeus e Aline pela constante ajuda.

Ao Prof. Dr. Eduardo Cassel do DEQ – PUCRS, que me proporcionou e ensinou os primeiros passos da pesquisa científica e pelos incentivos tanto na vida profissional como na vida pessoal.

Aos meus amigos do DEQ – UFSCar, em especial aos amigos da Bioquímica pelo companheirismo, apoio e colaboração na realização deste trabalho.

Ao CNPq, CAPES e FAPESP (Processo 2011/23807-1) pelo apoio financeiro.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
LISTA DE FIGURAS .....	iii
LISTA DE TABELAS .....	v
LISTA DE QUADROS .....	vi
NOMENCLATURA.....	vii
CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
2.1 Histórico da produção de etanol.....	6
2.2 Cana-de-açúcar.....	9
2.2.1 Bagaço de cana-de-açúcar .....	11
2.2.2 Palha de cana-de-açúcar.....	11
2.2.3 Estrutura dos materiais lignocelulósicos.....	12
2.3 Produção de etanol de segunda geração (E2G).....	13
2.3.1 Pré-tratamento.....	15
2.3.1.1 Explosão a vapor .....	16
2.3.1.2 Pré-tratamento hidrotérmico.....	17
2.3.1.3 Pré-tratamento ácido.....	18
2.3.1.4 Pré-tratamento alcalino.....	19
2.3.2 Hidrólise.....	19
2.3.2.1 Hidrólise ácida.....	19
2.3.2.2 Hidrólise enzimática.....	20
2.3.3 Fermentação do hidrolisado.....	21
2.3.4 Destilação.....	22
2.4 Agitação e mistura.....	22
2.4.1 Tanque agitado.....	22
2.4.2 Impelidores .....	25
2.4.2.1 Impelidores tipo turbina Rushton .....	26
2.4.2.2 Impelidor tipo orelha de elefante.....	27
2.4.3 Chicanas.....	28
2.5 Tempo de mistura.....	28
2.5.1 Método de temperatura .....	29

2.5.2 Método colorimétrico .....	29
2.5.3 Método de condutividade ou pH.....	30
2.6 Consumo de potência .....	30
2.7 Características reológicas.....	33
2.8 Hidrólise enzimática em batelada alimentada.....	37
2.9 Considerações finais.....	39
<b>CAPÍTULO 3 - MONTAGEM E ADEQUAÇÃO DE UMA UNIDADE EXPERIMENTAL PARA A HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS.....</b>	<b>41</b>
3.1 Unidade experimental .....	41
3.2 Impelidores .....	43
<b>CAPÍTULO 4 - METODOLOGIA PARA ESCOLHA DA MELHOR CONFIGURAÇÃO DE IMPELIDORES.....</b>	<b>46</b>
4.1 Introdução .....	46
4.2 Materiais e métodos .....	47
4.2.1 Material.....	47
4.2.2 Determinação da umidade .....	47
4.2.3 Caracterização química da biomassa .....	47
4.2.3.1 Extrativos.....	48
4.2.3.2 Hidrólise ácida.....	48
4.2.3.3 Determinação de lignina solúvel .....	49
4.2.3.4 Determinação de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural e hidroximetilfurfural na fração líquida. ....	49
4.2.3.5 Determinação de lignina insolúvel .....	50
4.2.3.6 Determinação de cinzas.....	50
4.2.4 Configurações de impelidores .....	51
4.2.5 Tempo de mistura .....	51
4.2.6 Hidrólise enzimática .....	52
4.2.6.1 Quantificação de glicose.....	53
4.2.6.2 Consumo de potência .....	53
4.2.6.3 Análise Reológica.....	54
4.3 Resultados e discussões.....	55
4.3.1 Determinação da umidade .....	55
4.3.2 Caracterização química da biomassa .....	55
4.3.3 Tempo de mistura .....	56

4.3.4 Hidrólise enzimática .....	58
4.3.4.1 Quantificação de glicose.....	58
4.3.4.2 Consumo de potência .....	61
4.3.4.3 Análise reológica.....	67
4.4 Conclusões .....	68
<b>CAPÍTULO 5 - HIDRÓLISE ENZIMÁTICA EM BATELADA E BATELADA ALIMENTADA .....</b>	<b>69</b>
5.1 Introdução .....	69
5.2 Materiais e métodos .....	70
5.2.1 Materiais .....	70
5.2.2 Estratégias de batelada e batelada alimentada .....	70
5.2.2.1 Análise de glicose.....	72
5.2.2.2 Consumo de potência .....	72
5.2.2.3 Análise reológica.....	73
5.3 Resultados e discussões.....	73
5.3.1 Quantificação de glicose.....	73
5.3.2 Consumo de potência.....	76
5.3.3 Análise reológica .....	80
5.4 Conclusões .....	81
<b>CAPÍTULO 6 – AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA ENERGÉTICA NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS .....</b>	<b>82</b>
6.1 Introdução .....	82
6.2 Materiais e métodos .....	82
6.2.1 Materiais .....	82
6.2.2 Pré-tratamento.....	83
6.2.2.1 Explosão a vapor .....	83
6.2.2.2 Hidrotérmico .....	83
6.2.3 Hidrólise enzimática .....	84
6.2.3.1 Quantificação de glicose.....	84
6.2.3.2 Consumo de potência .....	85
6.2.3.3 Análise Reológica.....	85
6.3 Resultados e Discussões.....	85
6.3.1 Caracterização das biomassas.....	85
6.3.2 Hidrólise enzimática .....	86

6.3.2.1	Quantificação de glicose.....	86
6.3.2.2	Consumo de potência .....	87
6.3.2.3	Análise reológica.....	90
6.4	Conclusões .....	91
CAPÍTULO 7 - PROTOCOLO DE AUMENTO DE ESCALA.....		92
7.1	Introdução .....	92
7.2	Materiais e métodos .....	93
7.2.1	Constância do tempo de mistura ( $t_m$ ).....	93
7.2.2	Constância do consumo de potência por unidade de volume (P/V) .....	94
7.3	Resultados e discussões.....	97
7.3.1	Constância do tempo de mistura ( $t_m$ ).....	98
7.3.2	Constância do consumo de potência por unidade de volume (P/V) .....	98
7.4	Conclusões .....	99
CAPÍTULO 8 - CONCLUSÕES FINAIS.....		100
CAPÍTULO 9 - SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....		101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....		102

## RESUMO

Neste trabalho avaliou-se, primeiramente, o desempenho de quatro configurações de impelidores na hidrólise enzimática do bagaço explodido de cana-de-açúcar. As configurações avaliadas foram: (1): turbina Rushton – turbina Rushton; (2): *Elephant ear down-pumping* e turbina Rushton; (3): turbina Rushton e *Elephant ear up-pumping*; (4): *Elephant ear down-pumping* e *Elephant ear up-pumping*. A escolha da melhor configuração de impelidores foi baseada na eficiência de mistura, caracterizada pelo tempo de mistura. As configurações também foram avaliadas considerando a conversão de celulose em glicose, o consumo de potência, bem como o comportamento reológico durante a hidrólise. Os experimentos de hidrólise em batelada foram realizados em reator tipo tanque agitado (3 L) utilizando 10% m/v de sólidos (pH 4,8; 50°C; 470 rpm), 10 FPU·g<sup>-1</sup><sub>biomassa</sub> por 96 h. A configuração (4) apresentou os menores valores de tempo de mistura e uma eficiência energética de 78,9 %·MJ<sup>-1</sup>. Com o intuito de obter-se alta concentração de glicose associada a um baixo consumo de potência, investigou-se dois modos de operação: batelada e batelada alimentada. As estratégias avaliadas foram: E1 [20%]; E2 [10(E)+5+5%]; E3 [5(E)+5+5+5%]; E4 [5(E)+5+5+5%] e E5 [5(E)+5(E)+5(E)+5(E)%]. Os melhores resultados foi obtido na estratégia E5, obtendo uma eficiência energética de 0,35 kg<sub>glicose</sub>·kWh<sup>-1</sup>. Este valor foi 52% maior do que o obtido na operação em batelada simples (E1). Na continuação do trabalho, foi realizada a hidrólise enzimática do bagaço explodido e hidrotérmico e a palha de cana submetida ao pré-tratamento hidrotérmico. Os experimentos foram realizados em um reator de 3 L nas seguintes condições: carga de sólidos de 10% m/v (pH 4,8; 50°C, 470rpm ) e 10 FPU·g<sup>-1</sup><sub>biomassa</sub> por 96 h. A eficiência energética obtida na hidrólise do bagaço explodido mostrou-se 41 e 46 % superior aos pré-tratados de bagaço e palha hidrotermicamente, respectivamente. Finalmente, foi proposto um protocolo de aumento de escala com um fator de escala igual a 1000. Analisou a manutenção de dois parâmetros na escala maior: tempo de mistura (t<sub>m</sub>) e do consumo de potência por unidade de volume (P/V). Com a manutenção do parâmetro P/V constante, o tempo de mistura e consumo de potência da nova escala (3000L) foram aproximadamente 4 e 1000 vezes maiores, respectivamente, do que o obtido na escala menor escala (3L).

**Palavras-chave:** Bioetanol; Tempo de mistura; Hidrólise enzimática, Consumo de potência; Batelada alimentada; *Scale-up*.

## ABSTRACT

In this work it was evaluated, firstly, the performance of four impellers configurations in the enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. The configurations evaluated were: (1): Rushton turbine - Rushton turbine; (2): Elephant ear down-pumping and Rushton turbine; (3): Rushton turbine and Elephant ear up-pumping; (4): Elephant ear down-pumping and Elephant ear up-pumping. The choice of the best impeller configuration was based in mixing efficiency, characterized by the mixing time. The configurations were also evaluated considering the conversion of cellulose to glucose, power consumption as well as the rheological behavior during hydrolysis. The hydrolysis experiments were carried out in batch stirred tank reactor (3 L) using 10% w/v of solids (pH 4.8; 50°C; 470 rpm), 10 FPU·g<sup>-1</sup><sub>biomassa</sub> for 96 h. The configuration (4) showed the lowest mixing time and energy efficiency values (ratio of conversion of cellulose to glucose and total energy consumption) of 78.9%·MJ<sup>-1</sup>. Further, to get a high concentration of glucose associated with low power consumption, it was investigated two operating modes: batch and fed-batch. The strategies evaluated were: E1 [20%]; E2 [10(E)+5+5%]; E3 [5(E)+5+5+5%]; E4 [5(E)+5+5+5%], and E5 [5(E)+5(E)+5(E)+5(E)%]. The best energy efficiency was obtained for the E5 strategy in which substrate and enzyme were added simultaneously (0.35 kg<sub>glucose</sub>·kWh<sup>-1</sup>). This value was 52% higher than that obtained in the single batch operation (E1). In continuation of the work were carried out enzymatic hydrolysis of exploded and hydrothermal bagasse and cane straw submitted to hydrothermal pretreatment. The experiments were carried out under the conditions: solids loading of 10 (w/v), pH 4.8; 50 ° C; 470 rpm and 10 FPU·g<sup>-1</sup> biomass for 96 h. The efficiency obtained in the enzymatic hydrolysis of steam explosion sugarcane bagasse proved to be 41 and 46% higher than the hydrolysis of hydrothermally pretreated sugarcane straw and bagasse, respectively. Finally, a scale-up protocol with a scale factor equal to 1000 was proposed. It was analyzed the maintenance of two parameters on larger scale: the constancy of the mixing time ( $t_m$ ) and the constancy of the power consumption per unit volume (P/V). In turn, maintenance P/V parameter constant, the mixing time and the new scale power consumption (3000L) were approximately 4 and 1000 times higher, respectively, than those values obtained in the smaller scale (3L).

**Keywords:** Bioethanol; Mixing time; Power consumption; Rheology; Enzymatic Hydrolysis; Fed-batch; Scale-up.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Panorama da produção de automóveis (* dados até Novembro de 2015)....	7
Figura 2.2 - Produção de etanol total (anidro e hidratado).....	8
Figura 2.3 - Distribuição da produção de cana-de-açúcar no Brasil. ....	9
Figura 2.4 - Representação esquemática dos principais componentes da biomassa. ....	12
Figura 2.5 – Principais produtos obtidos a partir da cana-de-açúcar.....	14
Figura 2.6 - Etapas da produção de etanol a partir de biomassa. ....	15
Figura 2.7 - Representação esquemática da ação do pré-tratamento sobre o material lignocelulósico.....	16
Figura 2.8 - Ilustração de um tanque agitado convencional. ....	23
Figura 2.9 - Principais tipos de fundos de tanque agitado. (A) Plano; (B) Semiesférico (C) Abaulado. ....	24
Figura 2.10 - Exemplos de Fluxo: (a) fluxo radial; (b) fluxo axial. ....	26
Figura 2.11 – Impelidor do tipo turbina Rushton (RT). ....	27
Figura 2.12 - Impelidores do tipo <i>Elephant Ear</i> . (a) fluxo descendente e (b) fluxo ascendente, no sentido horário. ....	27
Figura 2.13 - Reograma de fluidos. ....	33
Figura 3.1 - Representação esquemática da unidade experimental. ....	41
Figura 3.2 - Medidas do reator utilizado. ....	42
Figura 3.3 - Dinamômetro digital utilizado nos experimentos.....	43
Figura 3.4 - (a) Imagem do impelidor turbina <i>Elephant Ear</i> up-pumping (b) dimensões do impelidor.....	44
Figura 3.5 – (a) Imagem do impelidor turbina Rushton. (b) dimensões do impelidor...	44
Figura 4.1 - Configurações de impelidores empregadas neste estudo.....	51
Figura 4.2 - Representação esquemática do aparato experimental empregado para a determinação do tempo de mistura.....	52
Figura 4.3 - (a) Reômetro; (b) spindle (SC4 - 31); (c) spindle (SC4 - 18).....	54
Figura 4.4 - Tempo de mistura obtidos para as configurações estudadas: (a) RT-RT; (b) EEDP-RT; (c) RT-EEUP; (d) EEDP-EEUP.....	57
Figura 4.5 – Concentração de glicose ( $C_G$ ) ao longo da hidrólise enzimática .....	58
Figura 4.6 - Conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) ao longo da hidrólise. ....	59
Figura 4.7 - Velocidade média de cisalhamento ( $\dot{\gamma}_m$ ) em função do tempo de hidrólise para as configurações estudadas com uma rotação de 470 rpm. ....	60

Figura 4.8 - Consumo de potência em diferentes rotações com diferentes concentrações de sólidos: (a) $C_s = 2\%$ ; (b) $C_s = 4\%$ ; (c) $C_s = 6\%$ ; (d) $C_s = 8\%$ ; (e) $C_s = 10\%$ . .....	62
Figura 4.9 – Consumo de potência (P) das quatro configurações de impelidores durante a hidrólise enzimática do bagaço.....	63
Figura 4.10 - Consumo de potência (P) durante a primeira hora de hidrólise.....	64
Figura 4.11 - Número de Potência ( $N_p$ ) em função do número de Reynolds (Re).....	66
Figura 4.12 - A viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ) e conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) em função do tempo de hidrólise para diferentes configurações de impelidores.....	67
Figura 5.1 - Unidade experimental: (1) Banho Ultra termostato; (2) Inversor de Frequência; (3) Motor; (4) Dinamômetro; (5) Reator; (6) Impelidores <i>Elephant Ear</i> e; (7) Chicanas.....	71
Figura 5.2 – Concentração de glicose ( $C_G$ ) ao longo da hidrólise enzimática. ....	73
Figura 5.3 - Conversão de celulose em glicose ao longo da hidrólise enzimática. ....	74
Figura 5.4 - Consumo de potência por unidade de volume (P/V) ao longo da hidrólise. (a) estratégia E1; (b) estratégia E2; (c) estratégia E3; (d) estratégia E4; (e) estratégia E5. ....	77
Figura 5.5 – Fotografia do interior do reator nos primeiros minutos de hidrólise. ....	78
Figura 5.6 - Viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ) em função do tempo de hidrólise. ....	80
Figura 6.1 - Reator Parr utilizado para o pré-tratamento hidrotérmico. ....	84
Figura 6.2 - Concentração de glicose ( $C_G$ ) ao longo da hidrólise enzimática das diferentes biomassas. ....	86
Figura 6.3 – Conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) ao longo da hidrólise enzimática das diferentes biomassas.....	87
Figura 6.4 - Consumo de potência por unidade de volume (P/V) ao longo da hidrólise. (a) bagaço de cana explodido; (b) bagaço de cana hidrotérmico; (c) Palha de cana hidrotérmica.....	88
Figura 6.5 - Viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ) em função do tempo de hidrólise. ....	90
Figura 7.1 - Escalas de trabalho no desenvolvimento de processos.....	92
Figura 7.2 – Memorial de cálculo para a obtenção da rotação na nova escala ( $N_2$ ).....	94
Figura 7.3 – Memorial de cálculo para a obtenção do tempo de mistura. ( $t_{m2}$ ) da nova escala. ....	96
Figura 7.4 - Fator tempo de mistura ( $\Phi$ ) em função do número de Reynolds (Re) para a configuração 4 – EEDP - EEUP.....	97

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Comparativo de energia na produção de etanol a partir do milho e da cana-de-açúcar (GJ/ha·ano).....	10
Tabela 2.2 - Composição básica da cana-de-açúcar. ....	10
Tabela 4.1 - Caracterização do bagaço explodido de cana-de-açúcar. ....	55
Tabela 4.2 - Tempo de mistura (em “s”) para as diferentes configurações de impelidores. ....	56
Tabela 4.3 - Dados de inibidores/desativadores em 96 horas de hidrólise.....	61
Tabela 5.1 - Condições de alimentação dos ensaios de hidrólise em batelada alimentada. ....	71
Tabela 5.2 – Concentração de glicose ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) analisada em tempos específicos da hidrólise .....	74
Tabela 5.3 - Dados da energia específica consumida e da eficiência energética das configurações.....	79
Tabela 6.1 – Caracterização química do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado hidrotermicamente (195°C por 10 min). ....	85
Tabela 6.2 - Caracterização química da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente (195°C por 10 min). ....	86
Tabela 6.3 – Dados da concentração de glicose, da energia específica consumida e da eficiência energética das configurações. (10% de sólidos, m/v; 470 rpm; 10 $\text{FPU}\cdot\text{g}_{\text{substrato}}^{-1}$ ; 96 horas).....	89
Tabela 7.1 – Resumo dos dados de <i>scale-up</i> do processo estudado.....	99

## LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1 - Dimensões do reator.....	42
Quadro 3.2 - Dimensões dos impelidores Elephant Ear.....	44
Quadro 3.3- Dimensões do impelidor turbina Rushton.....	45

## NOMENCLATURA

A	área	[m <sup>2</sup> ]
b	braço	[m]
C <sub>G</sub>	concentração de glicose	[g·L <sup>-1</sup> ]
C <sub>S</sub>	concentração de sólidos	[%]
D <sub>i</sub>	diâmetro impelidor do tipo Rushton	[m]
D <sub>T</sub>	diâmetro do tanque	[m]
E	estratégia de alimentação	[-]
Ē	energia	[W·h]
E <sub>E</sub>	eficiência energética	[%·MJ <sup>-1</sup> ]
Ē <sub>ESP</sub>	energia específica	[kW·m <sup>-3</sup> ]
F	força	[N]
g	gravidade	[g·s <sup>-2</sup> ]
H	altura do tanque	[m]
H <sub>i</sub>	distância entre os impelidores	[m]
H <sub>j</sub>	distância entre o impelidor e o fundo do tanque ( <i>clearance</i> )	[m]
H <sub>L</sub>	altura de líquido	[m]
H <sub>R</sub>	altura do rolamento	[m]
H <sub>T</sub>	altura do termopar	[m]
K	índice de consistência	[Pa·s <sup>n</sup> ]
L <sub>c</sub>	largura das chicanas	[m]
L <sub>i</sub>	comprimento da lâmina do impelidor	[m]
L <sub>R</sub>	largura do rolamento	[m]
N	rotação	[rps]
n	índice de escoamento	[-]
N <sub>p</sub>	número de potência	[-]
P	potência	[W]
P/V	potência por unidade de volume	[W·m <sup>-3</sup> ]
Re	número de Reynolds	[-]
T	torque	[N·m]
t	tempo	[s]
t <sub>m</sub>	tempo de mistura	[s]

V	volume	[m <sup>3</sup> ]
X <sub>C-G</sub>	conversão de celulose em glicose	[%]
w	altura da pá do impelidor	[m]

### Símbolos gregos

$\mu_{ap}$	viscosidade aparente	[mPa·s]
$\rho$	massa específica	[kg·m <sup>-3</sup> ]
$\omega$	velocidade angular	[rad·s <sup>-1</sup> ]
$\dot{\gamma}_m$	velocidade média de cisalhamento	[s <sup>-1</sup> ]
$\Phi$	fator tempo de mistura	[-]

## CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

Atualmente, a preocupação com o aquecimento global ocupa um lugar de destaque no contexto internacional. Apesar do petróleo ser ainda o principal combustível utilizado mundialmente, a busca por um substituto que seja renovável vem sendo amplamente estudada, com o intuito de diminuir os danos ambientais.

A criação do Protocolo de Kyoto em 1997, trouxe exigências mais rígidas aos países desenvolvidos acerca das emissões atmosféricas. O uso de biocombustíveis representa uma das formas mais efetivas de reduzir as emissões de gases do efeito estufa (GEE) associadas ao consumo energético no setor de transporte. Segundo Balat et al. (2008), Soccol et al. (2010), El Bassan (2010) e Farina, Rodrigues e Sousa (2013), o uso do etanol produzido a partir da cana-de-açúcar chega a reduzir as emissões de GEE em até 90% quando comparado aos combustíveis fósseis, como a gasolina. Este efeito de redução atribuído ao etanol da cana-de-açúcar é reconhecido pela Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA), que classifica o etanol brasileiro como um combustível avançado devido ao seu desempenho ambiental em relação ao etanol produzido por outras matérias-primas como milho, trigo e beterraba.

Apesar das inúmeras vantagens no consumo de etanol, ainda há muitas críticas em relação ao aumento da área plantada de cana-de-açúcar para fins de produção de combustíveis (RABELO, 2010). De acordo com Rosa e Garcia (2009), mesmo que atualmente não haja conflito no uso de terra para biocombustíveis e alimentos, isso poderá vir a existir em um futuro próximo se a demanda por etanol que substituirá os combustíveis fósseis vier a aumentar. Este problema torna-se mais evidente para os biocombustíveis provenientes de cereais, como é o caso do etanol de milho. Entretanto, com a implantação da produção de etanol de segunda geração proveniente de materiais lignocelulósicos tem-se a perspectiva de um aumento de 40 a 50% na produção de etanol, sem que haja a necessidade de mais área plantada de cana-de-açúcar (WACLAWOVSKY et al., 2010, PETROBRÁS, 2012).

O Brasil é o maior produtor mundial de etanol proveniente da cana-de-açúcar, também chamado de etanol de primeira geração (E1G). Na safra 2014/2015 foram produzidos 28 bilhões de litros de etanol (anidro e hidratado) (UNICA, 2015). No

Brasil, o etanol produzido a partir da cana-de-açúcar é o principal combustível substituto da gasolina. O etanol também pode ser obtido a partir de materiais lignocelulósicos, como o bagaço e palha de cana-de-açúcar, sendo denominado etanol de segunda geração (E2G).

Os materiais lignocelulósicos apresentam uma estrutura bastante complexa, necessitando assim de operações unitárias adicionais no processo de produção quando comparado ao processo de produção do etanol de primeira geração. Cita-se como operação adicional o pré-tratamento, que tem como objetivo alterar a estrutura da biomassa para torná-la mais acessível às enzimas que convertem os polímeros (celulose e hemicelulose) em açúcares (xilose e glicose). Diferentes tecnologias de pré-tratamento que incluem métodos químicos, mecânicos, biológicos e algumas combinações destes outros métodos têm sido propostas na literatura (MOSIER et al., 2005, BALAT et al., 2008).

Segundo Dasari et al. (2009) e Rabelo (2010), outro grande desafio para tornar a produção de etanol de segunda geração economicamente viável é a conversão da celulose em glicose, tanto em termos de custo quanto da qualidade do hidrolisado. Com o intuito de elevar a concentração de glicose ao final do processo de hidrólise e, conseqüentemente, uma maior conversão de celulose em glicose há necessidade de se trabalhar com uma carga de sólidos mais elevada durante a hidrólise. Porém, uma alta concentração inicial de sólidos pode acarretar alguns problemas operacionais durante o processo, tais como: alta viscosidade inicial, aumento no consumo de energia e queda na conversão de celulose em glicose. Ximenes et al. (2010), Ximenes et al. (2011) e Kim et al. (2011) verificaram experimentalmente que esta queda na conversão está associada a formação de inibidores/desativadores das enzimas, causada justamente pelo aumento da concentração de sólidos no processo.

Para minimizar estes problemas, a carga de enzima deve ser otimizada e/ou deve-se buscar melhorias com a transferência calor e de massa. No entanto, ambos os procedimentos trazem efeitos técnico-econômicos indesejáveis, como a inibição das enzimas, mistura pouco eficiente e um aumento no consumo de energia. Buscando uma carga enzimática ótima a ser utilizada no processo de hidrólise a partir de biomassas, Kim et al. (2005) relataram cargas de enzima que variam de 10 a 60 FPU (do inglês, *Filter Paper Unit*) por grama de substrato. No entanto, há formulações enzimáticas

novas e mais eficientes que foram desenvolvidas ao longo dos anos e hoje esses complexos enzimáticos estão disponíveis no mercado. Estudos mais recentes (Cannella et al., 2014; Costa et al., 2014, Liu et al., 2015) têm utilizado cargas inferiores de enzimas, entre 5 a 20 FPU por grama de biomassa. Kim et al. (2015) investigaram a utilização de uma proteína não-enzimática (albumina do soro bovino, BSA) para reduzir a dosagem de enzima no processo. O mesmo grau de conversão foi obtido com a carga de enzima de 15 FPU (sem adição de BSA) e 1,3 FPU por grama de substrato. Neste caso, esses autores verificaram que a proteína BSA evita a adsorção da celulase na lignina. Esta abordagem mostrou uma alternativa promissora para melhorar a digestibilidade enzimática da biomassa, uma vez que uma baixa carga de enzima se faz necessário no processo. No entanto, os autores não verificaram o custo que a adição desta proteína agrega ao processo.

A dosagem de enzima utilizada deve ser baseada em um conjunto de fatores, tais como: a eficácia do pré-tratamento (que afeta a biomassa susceptível à hidrólise), da carga de sólidos, da carga (a qual depende da atividade da enzima e o custo) e da eficiência da transferência de calor e de massa.

Durante a hidrólise enzimática, a suspensão fibrosa de materiais lignocelulósicos deve ser agitada e homogeneizada de forma adequada, a fim de promover uma mistura adequada e, por consequência, melhorar a transferência de calor e massa durante o processo. O mecanismo pelo qual as enzimas catalisam a hidrólise da celulose segue três etapas: *(i)* transferência de massa externa da enzima; *(ii)* a difusão/adsorção da enzima sobre a superfície do substrato; e *(iii)* a ação catalítica da celulase. A velocidade global de reação é determinada pelas taxas de três eventos que ocorrem em sequência. Após uma primeira fase inicial, a velocidade global de reação está sujeita a difusão interna e a adsorção da enzima sobre o substrato sólido. Se a transferência de massa externa é negligenciada, a velocidade global de reação será controlada pela segunda etapa (difusão interna). No entanto, se a mistura não for eficiente, a transferência de massa externa vai controlar a velocidade de reação global.

Em relação aos problemas de transferência de massa durante a hidrólise, o primeiro passo deve ser a seleção correta do sistema de agitação (impelidores), bem como das condições operacionais de acordo com o processo de interesse. Os critérios de seleção convencionais baseiam-se frequentemente nos parâmetros de desempenho como

a qualidade da mistura (tempo de mistura) e o consumo de energia (Foucault et al., 2005). Em um segundo momento, deve ser avaliado o processo operado em batelada alimentada, que se torna uma opção promissora para minimizar os problemas com a transferência de massa. Além disso, as estratégias de alimentação de enzima e/ou substrato possibilitam a redução da quantidade de enzimas utilizadas (Chen et al., 2007) e uma queda no consumo de potência devido à redução da viscosidade aparente durante o processo.

A viscosidade aparente e a característica da reação é um parâmetro importante da mistura e está diretamente relacionada com o consumo de energia e com o desgaste do equipamento (Dunaway et al., 2010). Alguns estudos na literatura investigaram o comportamento reológico de diferentes biomassas durante a hidrólise enzimática: palha de milho (Pimenova e Hanley, 2003; Stickel et al., 2009; Dunaway et al., 2010; Knutsen e Liberatore, 2010; Samaniuk et al., 2012; Du et al., 2014) serragem de vermelho-carvalho (Dasari e Berson, 2007), palha de cevada (Rosgaard et al., 2007), e bagaço de cana-de-açúcar (Geddes et al., 2010; Pereira et al., 2011, Liu et al., 2015).

O consumo de potência durante a hidrólise enzimática tem um grande impacto no custo operacional do processo. Assim, a estimativa deste importante parâmetro durante a hidrólise enzimática foi estudada por Dasari et al. (2009) utilizando palha de milho, por Palmqvist et al. (2011) no estudo com abeto (árvores coníferas da família das Pináceas) e por Palmqvist e Lidén (2012) utilizando arundo (árvores pertencentes à família Poaceae) e abeto.

A existência de lacunas no que diz respeito à escolha adequada de impelidores, ao monitoramento do consumo de potência, bem como ao comportamento reológico da suspensão de biomassas torna importante a realização de estudos que busquem investigar como esses fatores influem no processo.

Em função da necessidade de melhorias no processo de hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos, este trabalho tem como objetivos a determinação de uma metodologia para a escolha da melhor configuração de impelidores a ser utilizada na hidrólise enzimática de biomassas; e também a avaliação de diferentes estratégias de alimentação de substrato e/ou enzima na hidrólise enzimática a partir de materiais lignocelulósicos, visando obter altas concentrações de glicose e um baixo consumo total de energia.

Para atingir os objetivos aqui propostos, esta Tese foi estruturada em nove capítulos, assim divididos:

O **Capítulo 1** no qual é apresentada a introdução ao problema e a motivação para o estudo realizado.

O **Capítulo 2** refere-se a uma revisão bibliográfica sobre os principais assuntos abordados em cada um dos capítulos subsequentes.

O **Capítulo 3** apresenta o projeto, construção e operação da unidade experimental utilizada no desenvolvimento deste trabalho.

O **Capítulo 4** diz respeito à uma metodologia para a escolha da melhor configuração de impelidores a ser utilizada na hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos, avaliando importantes parâmetros de desempenho durante o processo.

O **Capítulo 5** mostra um estudo da hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar em dois regimes diferentes de operação: batelada e batelada alimentada. Na operação em batelada alimentada são avaliadas quatro diferentes estratégias de alimentação de substrato e/ou enzimas.

O **Capítulo 6** trata de uma comparação com duas diferentes biomassas (palha e bagaço de cana-de-açúcar) submetidas a dois diferentes pré-tratamentos (explosão a vapor e hidrotérmico), onde se avaliou a eficiência energética durante a etapa de hidrólise enzimática e o comportamento reológico da suspensão.

Finalmente, no **Capítulo 7** é proposto um protocolo de aumento de escala (*scale-up*), partindo de dados obtidos experimentalmente neste estudo em escala de bancada para uma escala industrial. Avaliaram-se dois critérios: o tempo de mistura e a potência por unidade de volume.

As principais conclusões e sugestões para trabalhos futuros são apresentados nos **Capítulos 8 e 9**, respectivamente.

## CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A liderança brasileira na produção de bioetanol representa uma oportunidade estratégica em um cenário de crescente demanda global por fonte de energia limpa e renovável. O Brasil tem uma história positiva com a produção de etanol proveniente da cana-de-açúcar a baixo custo devido às características locais e ao aporte de tecnologias adequadas que o país possui (CGGE, 2009).

### 2.1 Histórico da produção de etanol

A primeira crise do petróleo teve início em meados dos anos 70, onde os países membros da Organização dos Países Exportadores de Petróleo (OPEP) supervalorizaram o preço do petróleo, chegando a ter um aumento de 300%, em retaliação ao apoio dos Estados Unidos a Israel durante a Guerra do Yon Kippur. (UNICA, 2015).

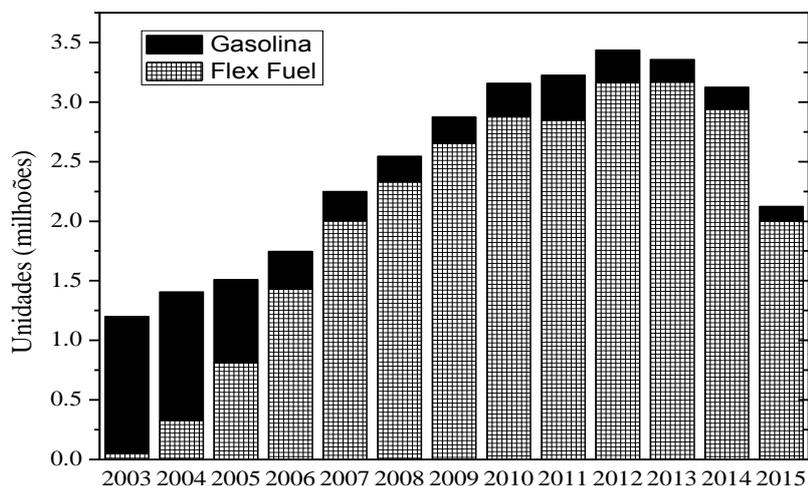
Esta crise foi uma das razões para o governo brasileiro criar em 1975, por meio do decreto nº 76.593/75, o Programa Nacional do Álcool (Proálcool). Na primeira fase, o programa tinha como objetivo utilizar a produção de etanol anidro para ser misturado à gasolina até um nível de 20% em substituição ao chumbo tetraetila, que era importado e altamente poluidor. Esta estratégia estava relacionada ao intenso aumento do preço do petróleo no mercado mundial e à necessidade crescente de importação do produto para o consumo interno, sendo o principal objetivo deste Programa a segurança energética do Brasil (SOCCOL et al., 2010; FARINA et al., 2013).

A partir de 1986, o Brasil atravessou uma grave crise econômica fazendo com que o governo passasse a reduzir os incentivos à produção de etanol, afetando, com isso, as vendas dos carros movidos por esse combustível. Nos anos seguintes, o preço do petróleo diminuiu, acarretando assim, uma queda dos biocombustíveis.

Entretanto, em 2003, ocorreu o segundo ciclo de expansão do etanol devido ao lançamento dos veículos com motores *Flex Fuel* que são capazes de funcionar tanto com etanol hidratado, gasolina ou com qualquer proporção desses dois combustíveis. De 2005 até os dias de hoje, os automóveis *Flex* são os mais produzidos, ultrapassando os carros movidos apenas à gasolina. Essa expansão pode ser visualizada na Figura 2.1,

onde se tem um panorama da produção de automóveis por combustível no Brasil. A produção de carros *Flex Fuel* em 2015 (dados até novembro de 2015) correspondeu a 88,4% da frota total, enquanto os carros movidos apenas à gasolina corresponderam a 5,5%.

Figura 2.1 - Panorama da produção de automóveis (\* dados até Novembro de 2015).

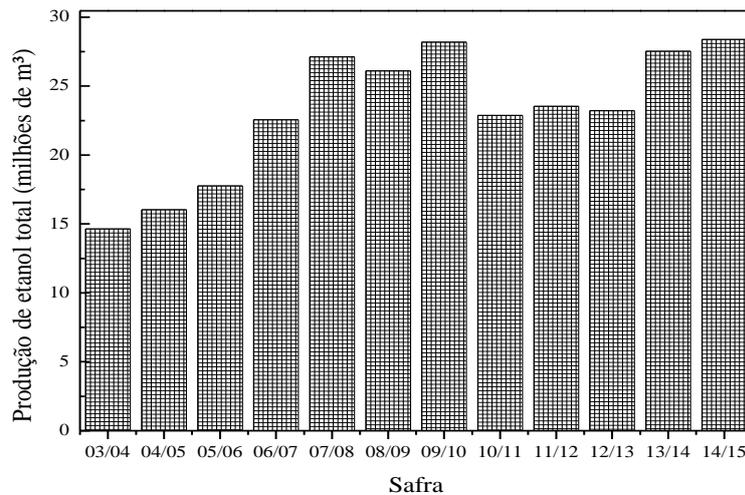


Fonte: (Dados da ANP, 2015 e ANFAVEA, 2015).

Conforme observa-se na Figura 2.1, no ano de 2012 atingiu-se a maior produção de automóveis no Brasil nos últimos 10 anos. Porém, a partir de 2013, houve uma desaceleração na produção de automóveis no Brasil. No ano de 2015, devido à grave crise econômica que o país está passando, a queda foi mais drástica do que os especialistas esperavam. De acordo com a Associação Nacional dos Fabricantes de Veículos Automotores (ANFAVEA), a queda total de produção de automóveis em 2015 foi de aproximadamente 25% em relação ao ano anterior, com previsão de melhora do setor apenas no final de 2016.

Em 1993, o governo brasileiro criou a Lei nº 8.723 - Redução de Emissões Veiculares – a qual consiste em adicionar o álcool anidro na gasolina. A proporção a ser adicionada varia de 20 a 25% e tem como objetivo oxigenar esse combustível, melhorando assim a sua combustão e reduzindo a emissão de gases poluentes na atmosfera. A Figura 2.2, têm-se os dados da produção de etanol total (anidro e hidratado) e consumidos na última década no Brasil.

Figura 2.2 - Produção de etanol total (anidro e hidratado).



Fonte: (Dados da ANP, 2015 e UNICA, 2015).

Até a safra 2009/2010, a produção de etanol vinha em expansão, porém os fenômenos climáticos ocorridos durante a safra 2010/2011 provocaram uma queda na produção de cana-de-açúcar, afetando assim a qualidade da cana (teor de sacarose) e, conseqüentemente, a produção de etanol. Outro fator que contribuiu para essa queda na produção de etanol, nesta safra, foi o aumento do preço do açúcar no mercado internacional, gerando um forte incentivo para a produção dessa *commodity* em detrimento à produção de etanol (INFOPETRO, 2011). A safra 2011/2012 registrou uma retração devido às medidas tomadas pelo governo brasileiro em 2011 que restringiu a mistura de etanol anidro à gasolina para 20%, resultando numa queda na produção de etanol, visualizadas na Figura 2.2. Na safra 2013/2014 houve um aumento de aproximadamente 15% na produção de etanol comparado com os dois anos anteriores devido, principalmente, ao restabelecimento da adição de 25% de etanol anidro na gasolina. No segundo semestre de 2014, o governo brasileiro aumentou o percentual de etanol anidro na gasolina para 27,5%, o que justifica manutenção do aumento na produção de etanol na safra 2014/2015.

De acordo com Farina et al. (2013), o programa brasileiro de utilização de energias renováveis no setor de transporte é um dos mais bem sucedidos do mundo. Não existe outro país que tenha aproximadamente 20 milhões de veículos leves rodando com qualquer combinação desejada de gasolina e etanol de cana-de-açúcar.

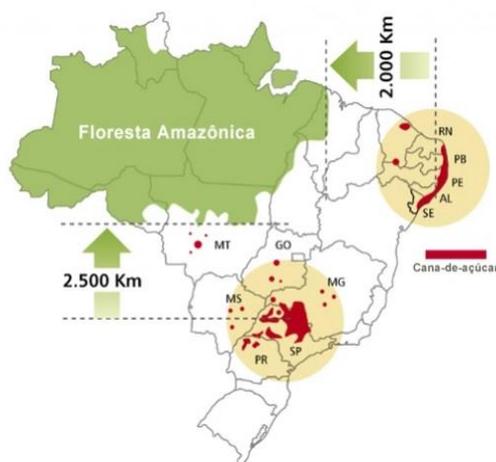
Os principais fatores para a alternativa da cana-de-açúcar na produção de bicomcombustíveis se dá pelo fato do seu rendimento energético e pela proximidade da realidade brasileira com essa matéria-prima, uma vez que o Brasil é o maior produtor mundial de cana e líder de tecnologia nesse tipo de cultura (SILVA, 2010).

## 2.2 Cana-de-açúcar

De origem asiática, a cana-de-açúcar (*Saccharum L.*) é uma gramínea da família Poaceae. Foi trazida ao Brasil pelos portugueses no início do século XVI e se tornou a primeira atividade econômica do país.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar obtendo na safra 2014-2015 um total de 632.127 toneladas (dados consolidados 20 de dezembro de 2015) de cana-de-açúcar produzida. As regiões Centro-Sul e Norte-Nordeste do Brasil foram as que concentraram a maior produção de cana-de-açúcar do país nesta última safra, com 90,38% e 9,61% respectivamente (UNICA, 2016). Como previa o Instituto de Economia Agrícola (IEA) a safra de 2014/2015 teve uma queda de aproximadamente 5% comparada com a safra anterior, devido, principalmente, a falta de chuvas na região sudeste, maior produtora de cana-de-açúcar do Brasil. Na Figura 2.3, apresenta-se o mapa da produção de cana-de-açúcar no Brasil.

Figura 2.3 - Distribuição da produção de cana-de-açúcar no Brasil.



Fonte: (UNICA, 2016)

A cana-de-açúcar é utilizada principalmente na produção de açúcar (mercado interno e externo) e de etanol (mercado interno). Também usada, em quantidades

menores, para pastagens de animais e na forma de ingrediente para alimentos, como é o caso da rapadura e da aguardente.

O rendimento energético obtido através do processamento da cana-de-açúcar é bastante elevado, isso pode ser ressaltado em diversos estudos de balanço de energia. A Tabela 2.1 mostra a relação de energias que são geradas e consumidas durante o processo de produção de etanol a partir do milho e da cana-de-açúcar. Observa-se a superioridade da relação de energia total para cana-de-açúcar, sendo superior a oito vezes a energia total proveniente do milho.

Tabela 2.1 - Comparativo de energia na produção de etanol a partir do milho e da cana-de-açúcar (GJ/ha·ano).

<b>Processo</b>	<b>Milho</b>	<b>Cana-de-açúcar</b>
Consumo de energia na produção	18,9	13,9
Energia da biomassa	149,5	297,1
Relação energética agrícola	7,9	21,3
Consumo de energia na produção de etanol	47,9	3,4
Energia contida no etanol	67,1	132,5
<b>Relação de energia total</b>	<b>1,21</b>	<b>8,32</b>

Fonte: Bernardo Neto (2009).

A composição da cana-de-açúcar varia de acordo com as condições climáticas, das propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo, do tipo de cultivo entre outros fatores. Na Tabela 2.2, tem-se a composição básica dos constituintes da cana-de-açúcar. A cana-de-açúcar é composta por sólidos insolúveis (fibras) e caldo (sólidos solúveis e água).

Tabela 2.2 - Composição básica da cana-de-açúcar.

<b>Componente</b>	<b>Teor (% massa)</b>
Sólidos solúveis totais	18 - 27
Fibras (base seca)	10 - 16
Água	69 - 76

Fonte: Mantelatto (2005)

Estudos como o de Cortez et al. (1992) destacam que desde o início da produção da cultura da cana no Brasil, deu-se pouca importância para o aproveitamento comercial

de seus principais subprodutos, dentre eles o bagaço e a palha de cana-de-açúcar que possuem grande potencial energético.

Com a crescente perspectiva da produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos, o bagaço e a palha de cana-de-açúcar, até o início dos anos 90 eram vistos como problemas nas usinas, e hoje ganharam uma grande visibilidade, acarretando em um aumento no potencial econômico destes subprodutos da cana.

Em tempos de escassez e preocupação em relação a energia, devido principalmente à falta de chuvas nos últimos anos que reduziram a capacidade de produção das hidrelétricas no Brasil, o bagaço e a palha de cana podem ser utilizadas como fonte alternativa de energia, restrito, é claro, à capacidade das caldeiras instaladas nas usinas. Em comparação com as atuais fontes de energia (hidrelétricas e termelétricas) tem um custo menor, sendo que apenas a energia eólica tem um menor custo.

### **2.2.1 Bagaço de cana-de-açúcar**

O bagaço de cana é uma abundante fonte de material lignocelulósico, sendo uma alternativa significativa para o aumento da produção de etanol. É um dos subprodutos agrícolas mais abundantes disponível no país. Estima-se que para cada tonelada de cana-de-açúcar moída obtém-se de 240 a 280 kg de bagaço (50% de umidade) (RODRIGUES et al., 2003, SOCCOL et al. 2010, UNICA, 2015).

Como é um subproduto, tem um custo baixo de produção ou transporte, por isso é muito valorizado, principalmente por ser substituto de combustível fóssil e da madeira na geração de vapor e energia elétrica (SILVA, 2010).

Segundo Knauf e Moniruzzaman (2004), teoricamente, uma tonelada de bagaço seco pode gerar aproximadamente 112 galões (425 litros) de etanol, considerando o aproveitamento dos açúcares provenientes da hemicelulose e da celulose.

### **2.2.2 Palha de cana-de-açúcar**

Devido ao grande potencial energético da palha da cana-de-açúcar e com a aplicação de leis que obrigam a suspensão gradativa das queimadas da cana no Estado de São Paulo, esta biomassa surge como uma fonte de matéria-prima promissora para a produção de etanol de segunda geração (SANTOS et al., 2013; SOUZA et al., 2015).

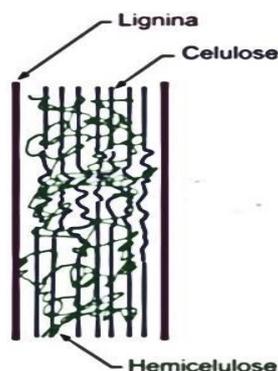
Estima-se, segundo Ripoli et al. (2012), que uma tonelada de palha de cana-de-açúcar equivale entre 1,2 a 2,8 barris de petróleo.

### 2.2.3 Estrutura dos materiais lignocelulósicos

Uma das dificuldades de conversão da biomassa em biocombustíveis ou em outros produtos de interesse vem do fato da complexa estrutura morfológica destes materiais (ZHENG et al., 2009; CARLI, 2011).

Segundo Olsson e Hahn Hagerdal (1996), Zalvidar et al. (2001), Knauf e Moniruzzaman (2004), Wyman (2007) os materiais lignocelulósicos são majoritariamente compostos por três componentes principais: celulose (40 - 55%), hemicelulose (20 - 35%) e lignina (10 - 25%), conforme a Figura 2.4.

Figura 2.4 - Representação esquemática dos principais componentes da biomassa.



Fonte: Adaptado de Mosier *et al.* (2005).

A celulose é o polímero natural de maior ocorrência no mundo e um dos principais componentes da parte estrutural dos vegetais e, assim sendo, possui complexidade e rigidez em alto grau (SANTOS, 2013). A celulose é constituída por cadeias não ramificadas de unidades de D-Glicose, unidas por ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas. Devido à existência de vários grupos hidroxila ocorre a formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, o que gera regiões com alto grau de rigidez e organização entre as cadeias formadas. Essas cadeias se arranjam formando regiões cristalinas que são altamente organizadas e com isso mais resistentes à degradação, intercaladas por regiões amorfas as quais são mais susceptíveis à degradação. (RABELO, 2010; GARCIA, 2011).

A hemicelulose é um heteropolissacarídeo amorfo formado por cadeias lineares com ramificações laterais, composta por hexoses (glicose, manose, galactose) e pentoses (arabionose e xilose). De acordo com Chemmés et al. (2013) a hemicelulose atua fazendo ligações entre a lignina e as fibras de celulose atribuindo rigidez e promovendo a integração dos três polímeros, celulose-hemicelulose-lignina.

A lignina, depois da celulose, é a macromolécula mais abundante dentre as biomassas lignocelulósicas. As principais funções da lignina são dar apoio estrutural à planta, impermeabilidade e resistência contra o ataque microbiano (SANTOS, 2013). A lignina é uma macromolécula aromática heterogênea formada por ligações éter biologicamente estáveis (HIGUCHI, 1982). Sua estrutura química é hidrofóbica e complexa. É formada por unidades de fenilpropano derivadas da polimerização oxidativa de três alcoóis precursores: trans-p-cumárico, trans conífero e trans sinapílico (CURVELO, 1992). A presença da lignina na parede celular interfere na hidrólise enzimática dos carboidratos (RABELO, 2010).

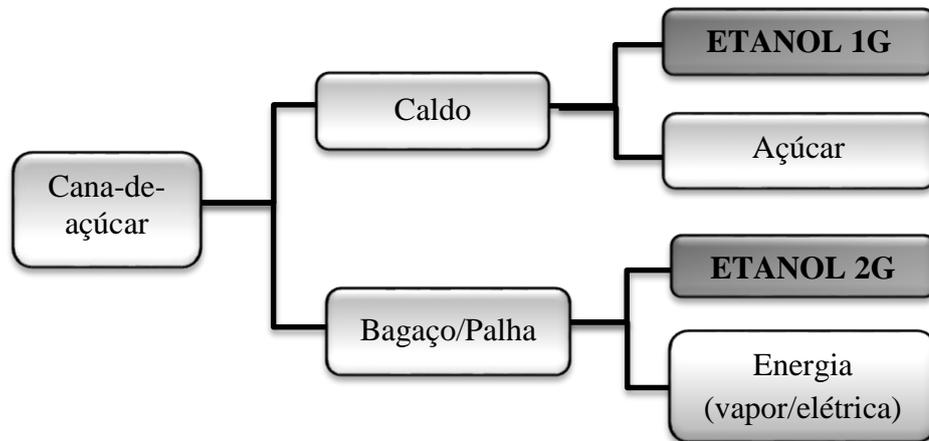
Devido ao grande potencial energético de biomassas como bagaço e palha de cana-de-açúcar há um grande interesse na utilização destes materiais lignocelulósicos na produção de etanol, o chamado etanol de segunda geração (E2G) ou etanol celulósico.

### **2.3 Produção de etanol de segunda geração (E2G)**

Desde o lançamento do Proálcool (Programa Nacional do Álcool) na década de 70, o etanol se tornou uma importante fonte de energia renovável para o Brasil. Atualmente, o bioetanol brasileiro, produzido a partir da cana-de-açúcar, tem o menor custo de produção e o maior rendimento em litros por hectare do produto (PETROBRÁS, 2014).

A produção do etanol é dividida em dois tipos: de primeira geração (E1G), obtido a partir da sacarose da biomassa, e o de segunda geração (E2G), obtido a partir da celulose de matérias-primas lignocelulósicas, chamado também de etanol lignocelulósico. A Figura 2.5 ilustra os produtos energéticos obtidos a partir da cana-de-açúcar.

Figura 2.5 – Principais produtos obtidos a partir da cana-de-açúcar.



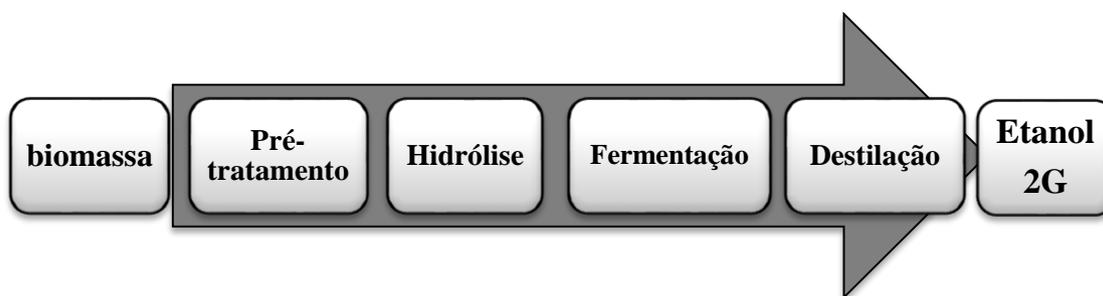
Fonte: Acervo Pessoal (2015).

Com o emprego de novas tecnologias no setor agrícola houve um aumento na produtividade da cana-de-açúcar através do melhoramento genético. Aliado a isso, é possível ainda obter no próprio campo o bagaço e a palha que podem ser separados e utilizados no processo para serem queimados para geração de energia da própria planta industrial ou processada para obtenção de etanol de segunda geração. Atualmente, pesquisas em laboratório estão voltadas para utilização de biomassas como a palha e o bagaço da cana-de-açúcar como matérias-primas alternativas na produção de etanol.

O etanol de segunda geração poderá ampliar a produção deste biocombustível em até 40%, sem aumentar a área plantada de cana-de-açúcar, trazendo maior produtividade, eficiência e sustentabilidade no ciclo de produção (PETROBRÁS, 2014).

O processo de produção de etanol a partir de biomassa divide-se em quatro principais etapas, conforme ilustra a Figura 2.6.

Figura 2.6 - Etapas da produção de etanol a partir de biomassa.



Fonte: Acervo Pessoal (2015).

### 2.3.1 Pré-tratamento

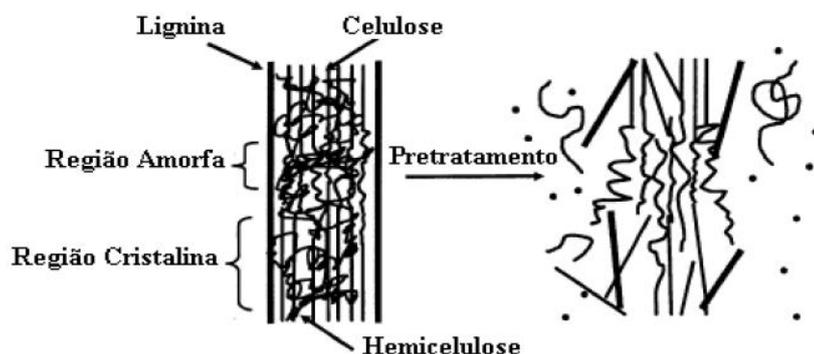
A característica dos materiais lignocelulósicos, tais como cristalinidade, porosidade e revestimento da celulose pela lignina dificulta a degradação enzimática da celulose, trazendo dificuldades de hidrolisar a biomassa aos monossacarídeos fermentescíveis (ROJAS, 2012). Devido a isso, o pré-tratamento da biomassa é uma das etapas operacionais mais relevantes em relação ao custo da produção de etanol, e tendo influência significativa nos custos e eficiência das etapas seguintes do processo.

Os principais objetivos do pré-tratamento são: reduzir o grau de cristalinidade da celulose, aumentar a área superficial da biomassa e evitar (ou diminuir) a formação de compostos inibidores na sequência do processo (RABELO, 2010).

Chemnés et al. (2013) relatam que um pré-tratamento é considerado eficaz quando diminui o grau de polimerização das moléculas de celulose, de forma que se tornem acessíveis ao processo de hidrólise, evita a formação de subprodutos inibidores nos processos de hidrólise e fermentação. Além destes mesmos autores, Olsson et al. (1996) e Mosier et al. (2005) também descrevem que a eficiência do pré-tratamento está relacionada com a demanda de energia e custos envolvidos durante o processo.

Há uma diversidade muito grande de pré-tratamentos sendo sugeridos na literatura atualmente, e são classificados como: métodos químicos, físicos, biológicos, ou um método combinado com todos estes. A Figura 2.7 representa a ação do pré-tratamento sobre a biomassa.

Figura 2.7 - Representação esquemática da ação do pré-tratamento sobre o material lignocelulósico.



Fonte: Adaptado de Mosier et al. (2005)

Nos próximos itens serão descritos alguns desses métodos de pré-tratamento mais citados na literatura.

### 2.3.1.1 Explosão a vapor

O processo de explosão a vapor é um dos principais pré-tratamentos utilizados para hidrólise de materiais lignocelulósicos. Este pré-tratamento é considerado como um dos melhores e mais rentáveis processos para separar os principais constituintes da biomassa vegetal, aumentando assim, sua susceptibilidade à bioconversão (PITARELO, 2013).

Nesse processo, a biomassa é triturada e rapidamente aquecida por vapor de alta pressão (na literatura, os dados de pressão mais utilizados variam de 13 a 17 kgf e a temperatura de 190°C a 205 °C). A mistura da biomassa e do vapor é mantida por um período de 15 a 20 minutos (ROCHA et al., 2012; CTC, 2015). Em seguida, ocorre uma despressurização, ocasionando assim, uma mudança rápida de temperatura que tem como finalidade causar a ruptura nas ligações da lignina, da hemicelulose e da celulose. Para a descarga do material e escape de vapores é empregado um ciclone.

Os resultados disponíveis na literatura demonstram que este processo solubiliza em torno de 75 a 90% da hemicelulose, dependendo do substrato e da condição de pré-tratamento empregada, facilitando assim o acesso das enzimas à celulose (PITARELO, 2013).

Oliveira (2012) avaliou o efeito do pré-tratamento por explosão a vapor seguida ou não de uma etapa de deslignificação alcalina na hidrólise enzimática de biomassa. Constatou que esse método foi capaz de remover grande parte da hemicelulose e uma parte da lignina elevando assim a digestibilidade da celulose pelas enzimas celulolíticas.

Rocha et al. (2012) avaliaram o processo de pré-tratamento por explosão a vapor do bagaço de cana em escala piloto e constataram índices de rendimento altos (66,1%) e com baixo desvio padrão o que confirma o excelente método de pré-tratamento.

Pitarelo (2013) avaliou o efeito da temperatura (180 e 210°C), da concentração de ácido fosfórico (0 e 19 mg·g<sup>-1</sup><sub>bagaço seco</sub>) e do tempo de permanência no reator (5 e 10 minutos) do bagaço de cana-de-açúcar durante o pré-tratamento por explosão a vapor. Os resultados mostraram que os experimentos de auto-hidrólise (sem a presença de catalisador) associados ao aumento da drasticidade do pré-tratamento (210°C por 10 min) aumentaram a solubilização da hemicelulose e a acessibilidade da celulose à hidrólise enzimática. Enquanto nos experimentos de catálise fosfórica foram obtidos resultados equivalentes em condições mais suaves de pré-tratamento (180°C por 5 min).

Iroba et al. (2014) investigaram a influência do teor de umidade, da temperatura (e pressão) de vapor e do tempo da reação no estudo com palha de cevada. Os resultados obtidos neste estudo mostraram que este método de pré-tratamento resultou na quebra da matriz da biomassa com o aumento da lignina solúvel no ácido, acarretando com isso na degradação térmica de celulose e de hemicelulose.

### **2.3.1.2 Pré-tratamento hidrotérmico**

Este método consiste em aplicar uma pressão para manter a água no estado líquido a temperaturas elevadas entre 160 a 240°C, fazendo com que ocorram modificações na estrutura do material lignocelulósico. Esse processo baseia-se na solubilização da hemicelulose através da água quente, tornando a celulose mais acessível. Após o pré-tratamento o material gerado é filtrado, obtendo-se assim uma fração sólida rica em celulose e lignina e o hidrolisado além de conter celulose é rico em açúcares derivados (ALVIRA et al., 2010).

Segundo Mosier et al. (2005) o processo hidrotérmico é capaz de remover 80% de hemicelulose e melhorar a digestibilidade enzimática do material lignocelulósico. As principais vantagens desse método são: provoca alterações físico-químicas na celulose e

lignina favorecendo a maior eficiência de hidrólise; este processo não faz uso de reagentes químicos, que é interessante do ponto de vista ambiental e econômico; hidrolisa grande parte da fração hemicelulósica.

Ruiz et al., (2011) avaliaram diferentes condições operacionais durante o pré-tratamento hidrotérmico da palha de trigo, afim de verificar a influência dessas condições para a obtenção dos melhores índices de açúcares (glicose, xilose e arabinose) no hidrolisado. As condições operacionais estudadas foram: temperatura (160, 180 e 200°C), tamanho médio de partícula (0,330; 0,435; 0,488 mm) e o tempo (10; 30 e 60 minutos). Os melhores resultados para glicose foram de 21,1% na condição de 160°C durante 10 minutos com tamanho de partícula de 0,435mm, com um fator de severidade de 2,77. Para xilose o maior rendimento foi de 49,32% com um fator de severidade de 3,36 na condição de 180°C por 10 minutos e com um tamanho de partícula de 0,330 mm. Para arabinose, o maior índice (14,8%) foi encontrado na condição de 200°C por 10 minutos, com um fator de severidade de 3,94 e um tamanho de partículas com média de 0,488mm.

Santos (2013) avaliou a influência do tempo, da temperatura e da relação palha/água durante o pré-tratamento hidrotérmico na liberação de glicose. O pré-tratamento hidrotérmico mostrou-se bastante eficiente na remoção da hemicelulose, além de fornecer substratos de alta susceptibilidade à hidrólise enzimática. Os pré-tratamentos hidrotérmicos com temperaturas de 190 e 210°C proporcionaram maiores rendimentos na hidrólise da celulose, chegando a valores próximos de 100%, mostrando assim a sua eficiência e seu potencial na produção de etanol celulósico.

### **2.3.1.3 Pré-tratamento ácido**

O pré-tratamento com ácidos visa à solubilidade da hemicelulose e lignina, tornando assim, a celulose mais acessível à ação das enzimas. Segundo Balat et al. (2008), normalmente este pré-tratamento atinge altos rendimentos de açúcares a partir de material lignocelulósico.

Segundo Carli (2011), uma das vantagens deste pré-tratamento é a solubilização de hemicelulose. Por outro, lado existe o risco de formação de produtos voláteis de degradação do carbono e estes podem diminuir a conversão a etanol.

A utilização do pré-tratamento com ácido para remover hemicelulose foi testado em diversas matérias-primas que variam desde madeiras duras a gramíneas e resíduos agrícolas (Mosier et al., 2005).

#### **2.3.1.4 Pré-tratamento alcalino**

O pré-tratamento alcalino solubiliza a lignina e a hemicelulose contida na biomassa e aumenta a área superficial, permitindo a penetração de moléculas de água para as camadas interiores e rompe as ligações entre a hemicelulose e a lignina. Os tratamentos alcalinos utilizam baixos valores de pressão e temperatura comparados com outras tecnologias. Pode ser processado em condições ambiente, porém exige-se um tempo longo (BALAT et al., 2008).

O pré-tratamento utilizando hidróxido de sódio é um dos mais efetivos agentes alcalinos e tem sido usado para tratar diversos tipos de materiais lignocelulósicos. A característica do tratamento com NaOH é que ele pode remover a lignina sem ter grandes efeitos em outros componentes (BALAT et al., 2008).

O hidróxido de amônia ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) é outro agente alcalino que pode ser utilizada no pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar. Este agente tem a vantagem de não ser poluente, podendo ser reciclado devido à alta volatilidade.

### **2.3.2 Hidrólise**

Após o pré-tratamento, é realizada a etapa de hidrólise a qual é responsável pela quebra da celulose e dos oligômeros solubilizados no pré-tratamento. A hidrólise pode ser realizada tanto por via química como enzimática. Na rota química é feita com ácidos concentrados ou diluídos e na rota enzimática com o uso de complexo enzimáticos.

#### **2.3.2.1 Hidrólise ácida**

Existem dois tipos básicos de processos de hidrólise ácida: utilização de ácido diluído e de ácido concentrado e ocorre em dois estágios. O primeiro envolve a hidrólise da hemicelulose que esta hidrolisa-se mais rapidamente, deixando os açúcares mais acessíveis no meio reacional por um tempo longo, ocasionando a degradação e perda desses açúcares (CAVALCANTI-MONTAÑO, 2013). No segundo estágio, temperaturas mais altas são aplicadas, buscando otimizar a hidrólise da fração celulósica. O processo com ácido diluído utiliza altas temperaturas e pressões, com

tempos de reação que podem levar de segundos a alguns minutos, facilitando o uso de processos contínuos. Por outro lado, os processos com ácido concentrado são conduzidos em condições mais brandas, com tempos de reação mais longos (SILVA, 2010).

As principais dificuldades relacionadas à hidrólise ácida são: a lignina restringe o acesso à celulose (precisando ser removida anteriormente); condições de remoção da lignina são severas e demoradas; o reagente utilizado na hidrólise ácida pode atacar os açúcares formados, reduzindo a conversão da reação. Além disso, apresenta desvantagens em relação às condições de manuseio severas (pH e temperatura), o alto custo de manutenção devido aos problemas de corrosão e os custos com energia (FENGEL e WEGENER, 1989).

### **2.3.2.2 Hidrólise enzimática**

O processo de hidrólise enzimática a partir de biomassas é uma etapa relativamente lenta, devido complexidade estrutural do substrato (presença de lignina e hemicelulose), a qual torna a acessibilidade da celulose difícil e também devido a cristalinidade da celulose (BALAT et al., 2008; PITARELLO, 2013).

Conforme descrito por Olsson e Hahn Hagerdal (1996) a hidrólise enzimática é um processo realizado em condições mais brandas que a hidrólise ácida, com pH em torno de 4,0 a 5,0, temperaturas entre 40 e 50°C e com maiores rendimentos. Outra vantagem da hidrólise enzimática é que não apresenta problemas de corrosão nos equipamentos como pode ocorrer na hidrólise ácida.

Apesar das vantagens apresentadas pela hidrólise enzimática sua aplicação em grande escala ainda esbarra em dificuldades técnicas-econômicas. Entre as estratégias para tornar esta etapa viável em escala industrial estão o aumento da carga de sólidos e a busca por enzimas mais eficientes, o que ocasionaria em uma diminuição da carga de enzimas utilizadas e uma redução no tempo de hidrólise (OUYANG et al., 2013).

A hidrólise enzimática da celulose é realizada por enzimas chamadas de celulasas que são altamente específicas e podem ser produzidas por bactérias e fungos (GOUVEIA et al., 2010). O esquema clássico para degradação da celulose envolve a ação sinérgica de três principais classes de enzimas: endo-1,4-β-glucanases (que atacam as cadeias de celulose para produzir polissacarídeos de menor comprimento), Exo-1,4-β-

glucanases (que atacam os terminais não redutores dessas cadeias mais curtas e removem a celobiose) e  $\beta$ -glucosidases (que hidrolisam a celobiose e outros oligômeros à glicose) (HORN et al., 2012).

A hidrólise de materiais lignocelulósicos através da ação enzimática ocorre em três etapas: (1) ocorre a adsorção da enzima sobre a superfície do substrato (2) promovem a hidrólise da ligação glicosídica e; (3) desorvem da superfície e retornam ao meio (PITARELLO, 2013).

De acordo com Szczodrak e Fiedurek (1996) e Zhu (2005), o rendimento da hidrólise enzimática é governado por muitos fatores, que incluem tipo e concentração de substrato, pré-tratamento, inibição das enzimas pelos produtos finais da biodegradação, termoestabilidade das enzimas, tempo de reação, pH e agitação. O experimento de hidrólise enzimática é caracterizado no início por uma fase logarítmica, devido à liberação rápida de açúcares solúveis na reação. Após essa fase, há uma taxa de declínio na produção de açúcares (GREGG e SANDDLER, 1996). Essa queda da produtividade pode estar relacionada com inibição pelo produto, perda da enzima por adsorção à lignina ou inativação da enzima por diversos fatores, tais como desativação térmica e/ou mecânica (GREGG e SANDDLER, 1996 e DASARI e BERSON, 2007).

### **2.3.3 Fermentação do hidrolisado**

A fermentação é um processo biológico, no qual os açúcares são transformados pelos microrganismos em compostos de interesse comercial. O processo fermentativo depende do metabolismo do microrganismo utilizado e de suas limitações quanto ao tipo e concentração de substrato, tempo de reação, pH, temperatura, entre outros.

De acordo com Olsson e Hahn Hagerdal (1996), uma das dificuldades encontradas na produção de etanol de segunda geração (E2G) é a conversão eficiente do hidrolisado lignocelulósico. O meio reacional não contém somente açúcares fermentescíveis, mas também vários outros compostos que possuem efeitos inibidores sobre os microrganismos utilizados na fermentação. A composição destes constituintes depende do tipo de biomassa utilizada para a produção de etanol e da natureza do pré-tratamento empregado.

### **2.3.4 Destilação**

Após a etapa de fermentação, o etanol encontra-se diluído no vinho (6,0 a 10,0°GL) e necessita ser concentrado e purificado através de técnicas de separação, entre elas a destilação. A destilação é o principal processo de separação utilizado nas indústrias químicas. Neste processo, a coluna de destilação é alimentada com o vinho proveniente da etapa de fermentação contendo em sua composição dois componentes principais, o etanol e a água. Ao fim do processo de destilação obtém-se o etanol hidratado que é comercializado como combustível e deve possuir um teor alcoólico entre 92,5 e 93,8% em massa (JARDIM, 2014).

## **2.4 Agitação e mistura**

A agitação e mistura são pontos centrais de diversos processos industriais e em diferentes áreas, tais como alimentos, petróleo, farmacêuticos, entre outros. O sucesso desses processos está diretamente relacionado com a eficácia dessas operações.

Agitação e mistura, apesar de estarem interligadas, não são sinônimos. Agitação é o processo que fornece movimento, normalmente circulatórios, e auxilia na realização dos processos químicos e físicos de diversas aplicações. A mistura é o movimento aleatório de duas ou mais fases inicialmente separadas (McCABE et al., 2001).

Os objetivos de uma operação de mistura são: tornar (ou manter) homogênea uma solução, manter sólidos em suspensão ou ainda tornar eficientes os transportes de calor e massa. Estes objetivos podem ser atingidos na medida em que se busque movimentar o líquido no interior do reator, ou seja, transmitir potência ao líquido, através de um sistema de agitação (SCHMIDELL e BADINO, 2001).

### **2.4.1 Tanque agitado**

A agitação, nos casos típicos, ocorre em um tanque geralmente cilíndrico pela ação de impelidores que giram acoplados a um eixo que coincide com o eixo vertical do tanque (SILVA, 2002).

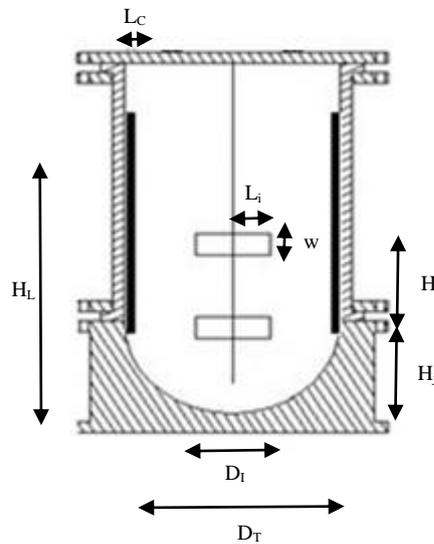
O tanque agitado é composto basicamente por um tanque cilíndrico, um ou mais impelidores, um motor e geralmente chicanas. A Figura 2.8 apresenta a ilustração de um tanque agitado convencional. As dimensões características de um sistema de agitação são: o diâmetro do tanque ( $D_T$ ), diâmetro do impelidor ( $D_i$ ), comprimento da pá do

impelidor ( $L_i$ ), altura da pá do impelidor ( $w$ ), a distância entre o impelidor e o fundo do tanque ( $H_J$ ), altura do líquido ( $H_L$ ) e a largura das chicanas ( $L_C$ ).

As configurações e dimensões características de um tanque agitado padrão descrito por (McCABE et al., 2001) são:

$$\frac{D_i}{D_T} = \frac{1}{4} \quad \frac{H_L}{D_T} = 1 \quad \frac{L_C}{D_T} = \frac{1}{12} \quad \frac{H_J}{D_i} = 1 \quad \frac{w}{D_i} = \frac{1}{5} \quad \frac{L_i}{D_i} = \frac{1}{4}$$

Figura 2.8 - Ilustração de um tanque agitado convencional.



Fonte: Acervo Pessoal (2015).

Apesar de existir estas relações geométricas dos tanques agitados que são chamadas de geometria convencional ou padrão, na prática, raramente verifica-se uma perfeita obediência a essas relações (CAMPESI, 2007). As relações geométricas de um tanque variam em função da aplicação desejada e das características dos fluidos envolvidos (JOAQUIM JÚNIOR et al., 2007). Essas relações são utilizadas pela necessidade de se obter maior homogeneização do meio reacional (SCHMIDELL e BADINO, 2001).

Outro fator importante é em relação ao fundo do tanque que pode afetar o padrão de fluxo no interior do reator. A seleção do tipo de fundo do tanque deve ser baseada nos seguintes fatores: existência de pressão interna, drenagem do fluido, volume do

vaso, grau de sanitariedade e custo. Existem diversos tipos de fundo de tanque sendo que os mais utilizados são: Planos, Abaulados e Semiesféricos.

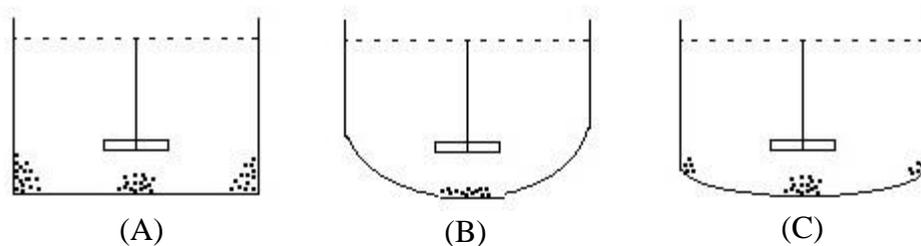
- Fundo Plano (Figura 2.9A) são normalmente utilizados em tanques de armazenamentos de grandes volumes. Não são recomendados para suspender sólidos, pois há uma maior incidência de zonas estagnadas, com acúmulo de sólidos próximo às bordas do tanque e no centro sob os impelidores, fazendo com que não haja uma homogeneidade eficiente da mistura.

- Fundo Semiesférico (Figura 2.9B) favorece a eliminação das zonas de estagnação nas bordas do tanque e minimizam o acúmulo de sólidos embaixo dos impelidores, ocorrendo assim uma maior homogeneização do produto e também apresentam uma maior resistência mecânica que os demais tipos. São recomendados para agitação de fluidos muito viscosos ou pastas. Tem como desvantagem a sua dificuldade de construção, normalmente feita através de gomos e de uma calota central (JOAQUIM JR et al., 2007).

- Fundo Abaulado (Figura 2.9C) tem uma excelente resistência mecânica. São empregados em vasos submetidos a pressões tanto positiva como negativa. Possui uma região central em forma de calota esférica e as laterais rebordeada, facilitando o escoamento de fluidos viscosos. Assim como o tanque de fundo semiesférico, esse formato diminui a deposição de sólidos embaixo dos impelidores.

Outras alternativas de geometria de fundo de tanque, como Difusor e Conefilete, foram criadas para atender alguns requisitos específicos para um determinado processo.

Figura 2.9 - Principais tipos de fundos de tanque agitado. (A) Plano; (B) Semiesférico (C) Abaulado.



Fonte: Acervo Pessoal (2015)

## 2.4.2 Impelidores

Os impelidores são responsáveis por impor movimento ao fluido no interior de um tanque agitado (McCABE et al., 2001). A escolha adequada dos impelidores para um determinado sistema dependerá do tipo de mistura, da capacidade e do formato do reator e das propriedades do fluido, essencialmente, da viscosidade do fluido de interesse (PARREIRA, 2010). A eficiência de um sistema de mistura tem um grande impacto no custo global de produção e também na qualidade do produto. Por isso, torna-se de suma importância um projeto eficiente de um sistema de mistura, devendo ser projetado impelidores que sejam capazes de proporcionar um nível desejado de mistura no menor tempo possível (SPOGIS, 2002).

Na agitação de fluidos os impelidores são os elementos essenciais e o conhecimento de seu comportamento é essencial para a eficácia do processo (SOUZA, 2011). Os impelidores são classificados de acordo com o regime de mistura: laminar ou turbulento. No regime laminar o diâmetro do impelidor é próximo do tamanho do tanque, devido ao transporte de quantidade de movimento ser baixo. Devido a esta característica as chicanas, normalmente, não são utilizadas nesse regime. Os impelidores mais utilizados neste regime são do tipo âncora e hélice.

O regime turbulento é onde a maioria dos processos ocorrem e devido a isto é considerado o mais importante, no qual ocorre a transferência de massa e energia. Nesse regime, o diâmetro dos impelidores varia de um quarto até a metade do diâmetro do tanque e são classificados em dois grandes grupos, de acordo com o fluxo (McCABE et al., 2001).

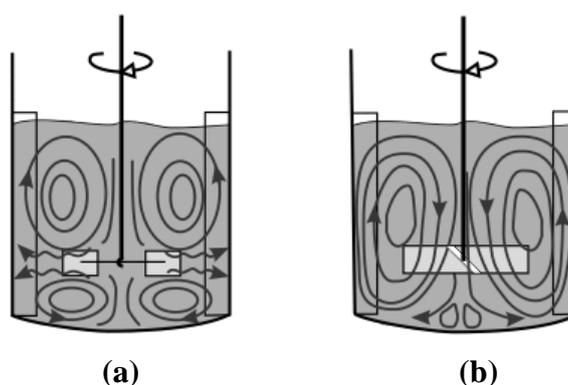
**Fluxo radial:** estes impelidores geram correntes tangenciais ou na direção perpendicular ao eixo do agitador. Produzem um padrão de dois estágios: uma circulação acima do impelidor e outra circulação abaixo deste. A turbina Rushton é o exemplo mais usual deste fluxo.

**Fluxo axial:** promove uma circulação do fluido entre o fundo e o topo do tanque, gerando uma maior uniformidade das variáveis do processo como a viscosidade e a concentração. Estes impelidores geram correntes paralelas ao eixo do agitador. Produzem um padrão de fluxo através de todo o volume de tanque em um único estágio. De acordo Bustamante (2013), a direção do escoamento é determinada pela orientação

das pás do impelidor, podendo ser ascendente ou descendente. Segundo Souza (2011), os impelidores de fluxo axial são mais eficientes do que os impelidores radiais, produzindo um fluxo maior com a mesma potência.

Os impelidores não geram apenas um padrão de fluxo, podendo, no entanto, determinar a predominância de um desses fluxos (SILVA, 2002). A Figura 2.10 mostra os exemplos de fluxo mais usuais produzidos pelos impelidores.

Figura 2.10 - Exemplos de Fluxo: (a) fluxo radial; (b) fluxo axial.



Fonte: Bustamante (2013).

A localização dos impelidores é de suma importância para uma boa eficiência da mistura e esta posição pode influenciar na formação de vórtice. Este fenômeno é formado pela rotação do fluido como se fosse um corpo sólido (MARTINI, 2010).

Há diversos tipos de impelidores usados na indústria química. Podendo variar o tamanho, número de pás, formato e inclinação das lâminas dependendo do tipo de mistura que serão empregados. Alguns tipos mais comuns de impelidores utilizados na literatura e estudados neste trabalho serão descritos no próximo item.

#### **2.4.2.1 Impelidores tipo turbina Rushton**

A turbina Rushton é o tipo de impelidor mais utilizado em sistemas de agitação e mistura. É muito eficiente na dispersão de líquidos ou gases de baixas concentrações e também apropriado para misturas com alta turbulência, porém com o elevado consumo de potência. O impelidor tipo turbina Rushton geralmente é composto de 6 pás (Figura 2.11). A rotação deste impelidor produz um fluxo intenso na direção radial, dividindo a

região da parede em duas recirculações distintas, uma acima e outra abaixo do impelidor (NAGATA 1975; MARTINI, 2010).

Apesar de ser bastante usado, esse tipo de impelidor possui algumas desvantagens como: formação de regiões estagnadas em zonas distantes do impelidor quando é operado em fluidos não-Newtonianos; gera alto cisalhamento, especialmente em regiões próximas das pás como citado por Campesi et al. (2009) e Bustamante (2013).

Figura 2.11 – Impelidor do tipo turbina Rushton (RT).



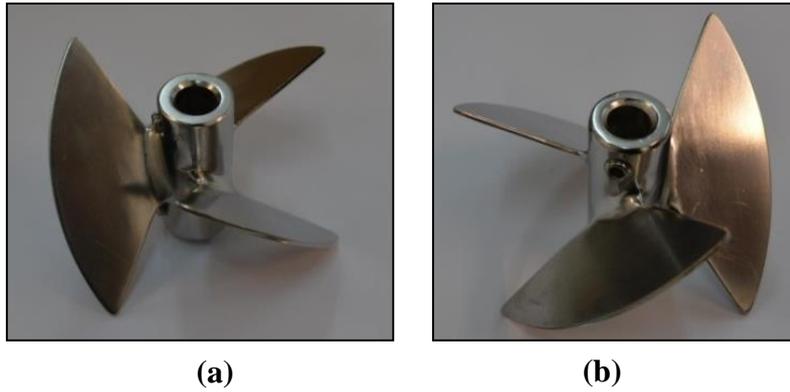
Fonte: Acervo Pessoal (2015).

Pereira et al. (2011) tiveram como objetivo selecionar um impelidor eficiente para ser usado em um reator agitado durante a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar. Utilizaram um impelidor do tipo turbina Rushton no estudo do comportamento reológico da suspensão do bagaço. Estes dados orientaram os autores para o desenvolvimento e aumento de escala na hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar.

#### **2.4.2.2 Impelidor tipo orelha de elefante**

O impelidor tipo “orelha de elefante”, do inglês *Elephant Ear* (EE), produz fluxo axial e radial simultaneamente devido a sua geometria. Possui, normalmente, três pás planas com formato triangular e com uma inclinação de 45° (BUSTAMANTE, 2013). A sua configuração depende do posicionamento das pás, podendo ser de fluxo ascendente, de fluxo descendente conforme mostra a Figura 2.12.

Figura 2.12 - Impelidores do tipo *Elephant Ear*. (a) fluxo descendente e (b) fluxo ascendente, no sentido horário.



Fonte: Acervo Pessoal (2015).

Há uma grande lacuna na literatura referente ao uso desses impelidores na hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos. Existem apenas estudos relacionados com cultivos de células animais (Zhu et al., 2009; Collignon et al., 2010) e cultivos para produção de ácido clavulânico por *Streptomyces clavuligerus* (Bustamante et al., 2013).

### 2.4.3 Chicanas

Na maioria dos reatores de tanque agitado existe a presença de chicanas, que tem o objetivo de provocar o distúrbio ou redirecionar o fluxo. A ausência destas chicanas em um reator provoca baixa tensão de cisalhamento entre o agitador e o fluido, formação de vórtices (movimento circular do fluido) e a penetração de ar (Joaquim Júnior et al., 2007). As chicanas são colocadas diametralmente opostas e aumentam o consumo de potência durante o processo, entretanto elevam significativamente a eficiência da mistura.

### 2.5 Tempo de mistura

O tempo de mistura é um importante parâmetro de desempenho econômico de um tanque agitado e tem influência direta sobre a qualidade do produto e no custo operacional (KORDAS et al., 2013).

O tempo de mistura ( $t_m$ ) é definido como o período de tempo necessário para a completa homogeneização de um fluido agitado em um reator (KRAMERS et al., 1953). Quando o valor da variável estudada se estabiliza, o tempo de mistura é alcançado. É um parâmetro empírico importante para descrever e caracterizar o comportamento do fluido no interior do reator, avaliando a eficácia da mistura. Quanto menor o tempo de homogeneização, mais eficiente é a mistura (MAYR et al., 1992;

MAGELLI et al., 2013). De acordo com Cerri (2009), o tempo de mistura é um índice global de mistura e é afetado pela mistura (axial e radial) e pelos efeitos de escoamento.

A sua determinação é dada através de um ensaio tipo pulso. Existem diversas técnicas para a determinação do tempo de mistura e as mais estudadas na literatura estão descritas a seguir.

### **2.5.1 Método de temperatura**

O método de pulso de temperatura consiste em adicionar uma quantidade de líquido em uma temperatura diferente da qual se encontra a mistura no reator. Durante a homogeneização, sensores localizados em determinadas posições no interior do reator dão informações quantitativas da temperatura durante o processo de mistura (BATAGLINI, 1998; TAN et al., 2011).

As grandes vantagens deste método estão relacionadas à sua simplicidade de execução e ao fato da medição poder ser realizada de forma contínua. De acordo com Fu et al. (2003), esta é uma técnica com dados estáveis, fáceis de analisar e que tem boa reprodutibilidade. Como desvantagem da técnica, tem-se a dependência do tempo de mistura com a localização do sensor de temperatura, sendo de fundamental importância a manutenção da mesma posição do sensor em todos os experimentos.

### **2.5.2 Método colorimétrico**

A determinação do tempo de mistura através desse método pode ser tanto pela adição de um corante em um líquido claro como também a ocorrência de uma rápida reação química na presença de um indicador, que pode ser uma reação ácido - base com fenolftaleína ou uma reação entre o iodo e o tiosulfeto de sódio na presença de uma solução de amido (BATAGLINI, 1998; TAN, 2011).

Esta técnica é baseada na observação visual. De acordo com Lee e Yianneskis (1997) e Tan et al. (2011) esse método é de fácil execução e de baixo custo. Esses trabalhos também descrevem que essa metodologia permite a visualização das zonas mortas e estagnadas da mistura durante a reação. Porém, devido à técnica de observação visual só pode ser usado em reatores transparentes e meios limpos. As principais desvantagens dessa metodologia é a subjetividade da visão de cada pessoa que realiza o experimento e de não ser aplicada em grande escala.

### **2.5.3 Método de condutividade ou pH**

Este método é determinado pela injeção de soluções ácidas (HCl) ou básicas (NaOH) na mistura e analisado o pH até a estabilização desta variável. Este método não é adequado para soluções não condutoras.

### **2.6 Consumo de potência**

Uma consideração importante na concepção de um reator de tanque agitado é a potência necessária para acionar o impelidor (McCABE et al., 2001). O conhecimento desta estimativa é bastante usado nos estudos de aumento de escala de reatores. Os custos relacionados com o consumo de energia contribuem significativamente para os custos globais do processo. Portanto, é desejável que o processo de mistura seja realizado de forma eficiente e com um gasto mínimo de energia necessária para atingir o objetivo.

Em reatores de tanque agitado a energia transmitida ao fluido, principalmente, através dos impelidores e, conseqüentemente, o consumo de potência durante a agitação deve-se, em grande parte, à resistência que o fluido exerce sobre as pás dos impelidores.

No estudo do consumo de potência em sistemas de agitação, existem algumas variáveis necessárias para se determinar esta estimativa, são elas: propriedades físicas do fluido ( $\mu$  e  $\rho$ ); rotação e localização do impelidor; geometria do impelidor e do tanque e a existência ou não de chicanas (SILVA, 2002).

A potência transmitida ao fluido tem forte influência nos processos de transferência de quantidade de movimento, calor e massa do processo, sendo, portanto, um parâmetro de extrema importância no projeto, na operação e na ampliação de escalas de reatores.

Existem duas principais maneiras de obter o consumo de potência de um sistema. A primeira é através da utilização de diagramas e correlações disponíveis na literatura como a obtenção da curva de número de potência ( $N_p$ ) em função do número de Reynolds ( $Re$ ) para determinados geometrias de reator e impelidores.

Parreira (2010) ressalta que essas curvas são para fluidos Newtonianos e componentes sólidos inertes, sem meio reacional. Devido a esse fato, a obtenção da

curva específica do fluido de interesse para uma determinada geometria de reator e impelidores é importante.

Os números adimensionais como número de potência e número de Reynolds são as variáveis de projeto mais importantes no estudo característico de determinado sistema de agitação, considerando no estudo dessas variáveis as propriedades do fluido em questão como viscosidade e a densidade (PARREIRA, 2010).

O número de Reynolds também determina qual o regime de escoamento que o sistema se encontra. Perry e Chilton (1973) e Nagata (1975) caracterizaram o regime laminar como  $Re < 10$ , a região de transição como sendo  $10 < Re < 10^4$  e o regime turbulento quando  $Re > 10^4$ .

O número de Reynolds para sistema com agitação é determinado conforme a Equação 2.1 (CALDERBANK e MOO-YOUNG, 1959; NAGATA, 1975).

$$Re = \frac{\rho \cdot N \cdot D_i^2}{\mu_{ap}} \quad \text{Equação 2.1}$$

Onde:  $\mu_{ap}$  é a viscosidade aparente do fluido.

O número de potência para fluidos em regime turbulento é determinado conforme a Equação 2.2 (CALDERBANK e MOO-YOUNG, 1959; NAGATA, 1975).

$$N_p = \frac{P}{\rho \cdot N^3 \cdot D_i^5} \quad \text{Equação 2.2}$$

Onde: P é potência consumida;  $\rho$  a densidade do fluido; N é a rotação do impelidor e  $D_i$  é o diâmetro do impelidor.

A outra maneira de se determinar o consumo de potência em um reator é de forma direta, ou seja, através de medidores de torque, como, por exemplo, o uso de dinamômetro.

O princípio desse equipamento é baseado na 3ª Lei de Newton e descrito da seguinte maneira. O impelidor provoca uma força mecânica no líquido contido no tanque. Este líquido produz um torque sobre o impelidor o qual é transmitido para o motor através do eixo de sustentação do impelidor. A reação do torque tende a fazer com que o motor gire livremente em cima de um rolamento acoplado na tampa do

reator. Isto permite o que o torque seja determinado através da aquisição dos dados armazenados no dinamômetro.

A partir desses dados, o consumo de potência pode ser calculado através da Equação 2.3 (BADINO, 1994; ASCANIO et al., 2004).

$$P = F \cdot b \cdot \omega \quad \text{Equação 2.3}$$

Onde: P é a potência consumida (W); F é força aplicada (N); b é o comprimento do braço(m) e  $\omega$  é a velocidade angular ( $s^{-1}$ ).

A velocidade angular é determinada pela Equação 2.4.

$$\omega = 2 \cdot \pi \cdot N \quad \text{Equação 2.4}$$

Onde: N é a rotação do impelidor ( $s^{-1}$ ).

Dasari et al. (2009) estudaram o comportamento da viscosidade e o consumo de potência durante a hidrólise enzimática da palha de milho, utilizando concentrações de sólidos iniciais de 10%, 15%, 20% e 25%. Os autores verificaram que o consumo de energia é diretamente proporcional à viscosidade da suspensão, pois ocorreu uma grande redução no consumo de energia durante as primeiras horas de hidrólise, até atingir o estado estacionário, isso foi constatado nas concentrações de sólidos estudadas.

Palmqvist et al. (2011) estudaram o efeito da mistura na hidrólise enzimática de abeto, utilizando um reator de tanque agitado, operado com diferentes rotações e cargas de enzima. Ocorreu uma grande diferença na taxa de hidrólise utilizando diferentes rotações. A conversão foi duas vezes mais alta a 500 rpm em comparando com uma rotação de 25 rpm e essa diferença se verificou ao longo de toda a hidrólise. Os resultados mostraram que a rotação teve efeito significativo sobre a conversão de glicose. Esse efeito mostrou ser proporcional à velocidade de cisalhamento média no reator, podendo desempenhar um papel importante durante a hidrólise.

Palmqvist e Lidén (2012) analisaram a influência da mistura na hidrólise enzimática de dois diferentes tipos de biomassa, arundo e abeto. O torque e o consumo de potência foram monitorados durante toda a hidrólise enzimática com diferentes concentrações de sólidos. Durante a hidrólise enzimática de arundo, verificou-se que o aumento do teor sólidos de 10 a 20% (10 rpm), resultou em um aumento das

concentrações de açúcares. No entanto, as conversões de glicose diminuíram utilizando concentrações de sólidos mais elevadas. Os ensaios com abeto mostrou-se que o aumento da concentração de sólidos resultou no aumento da concentração de açúcar e da conversão de glicose. O consumo de potência na hidrólise utilizando arundo foi independente da concentração de sólidos, enquanto o consumo de potência utilizando abeto foi fortemente influenciado pelo conteúdo de sólidos presentes na reação.

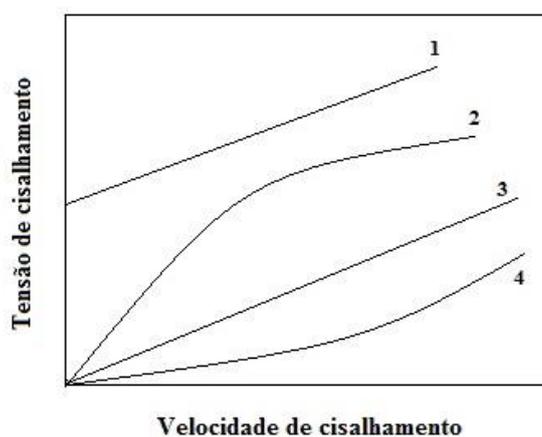
## 2.7 Características reológicas

Por definição, reologia é a ciência que estuda a deformação e o escoamento da matéria submetido a tensões ao longo de um intervalo de tempo.

De acordo com Cerri (2009), os estudos que envolvem estratégias do controle das variáveis de agitação, existe a necessidade do conhecimento das características do meio reacional ao longo do tempo de reação, pois as características reológicas do fluido podem sofrer mudanças, como o surgimento de um comportamento pseudoplástico.

A Figura 2.13 apresenta um resumo gráfico do comportamento de fluidos independentes do tempo.

Figura 2.13 - Reograma de fluidos. (1) fluido Bingham; (2) fluido pseudoplástico; (3) fluido Newtoniano e (4) fluido dilatante.



Fonte: Acervo pessoal (2015).

Os fluidos Newtonianos têm como característica apresentar uma relação linear entre a tensão de cisalhamento ( $\tau$ ) e a velocidade de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ). A viscosidade ( $\mu$ ) do fluido é definida como sendo a constante de proporcionalidade entre a tensão e a

velocidade de cisalhamento. As Equações 2.5 e 2.6, conhecidas como Lei de Newton definem, a reologia dos fluidos Newtonianos.

$$\tau = \mu \cdot \frac{du}{dy} \quad \text{Equação 2.5}$$

ou

$$\tau = \mu \cdot \dot{\gamma} \quad \text{Equação 2.6}$$

Onde:  $du/dy$  ou  $\dot{\gamma}$  é denominado velocidade de cisalhamento.

Os fluidos que não seguem a “Lei de Newton” são chamados de fluidos não Newtonianos. A relação entre a tensão de cisalhamento e velocidade de cisalhamento para esses fluidos não é linear.

Dentre os diversos tipos de fluidos não Newtonianos, destaca-se o pseudoplástico. O modelo da “lei da potência” descrito pela Equação 2.7, prediz o comportamento reológico deste tipo de fluido.

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad \text{Equação 2.7}$$

Onde:

$\tau$  = tensão de cisalhamento (Pa);

$K$  = índice de consistência do fluido (Pa.s<sup>n</sup>);

$\dot{\gamma}$  = velocidade de cisalhamento (s<sup>-1</sup>);

$n$  = índice de comportamento de escoamento do fluido (adimensional).

Quando  $n=1$ , o fluido é caracterizado como Newtoniano. Neste caso, o índice de consistência ( $K$ ) é a própria viscosidade aparente do fluido.

Quando  $n<1$ , o fluido é considerado como pseudoplástico. Para esse tipo de fluido, a viscosidade aparente diminui com o aumento da velocidade de cisalhamento.

Quando  $n>1$ , o fluido é considerado como dilatante. A viscosidade aparente deste tipo de fluido aumenta com a velocidade de cisalhamento.

Conforme descrito por Chisti (2001), a velocidade média de cisalhamento ( $\dot{\gamma}_m$ ) varia com a velocidade de rotação do impelidor em reatores convencionais tipo tanque agitado. O conhecimento desta variável é essencial, pois tem grande influência na viscosidade aparente dos fluidos não-Newtonianos durante a reação (SÁNCHEZ-

PÉREZ et al., 2006). Segundo Campesi (2007), nos tanques com impelidor tipo turbina com pás planas, a velocidade de cisalhamento é máxima próxima à ponta do impelidor e diminui conforme se distancia deste. Devido a isto, valores médios da velocidade de cisalhamento devem ser determinados.

Sánchez-Pérez et al. (2006) propuseram uma correlação da velocidade média de cisalhamento em regime turbulento para fluidos não-Newtonianos, conforme a Equação 2.8.

$$\dot{\gamma}_m = \left( \frac{4 \cdot N_p \cdot \rho \cdot D_i^2}{27 \cdot \pi \cdot K} \right)^{\frac{1}{1+n}} \cdot N^{\frac{3}{1+n}} \quad \text{Equação 2.8}$$

A viscosidade aparente para fluidos não Newtonianos que seguem a “lei da potência”, como é o caso dos fluidos pseudoplástico, é descrita pela Equação 2.9 (NAGATA, 1975).

$$\mu_{ap} = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = K \cdot \dot{\gamma}_m^{n-1} \quad \text{Equação 2.9}$$

Onde:

$\mu_{ap}$  = viscosidade aparente (Pa·s).

O comportamento reológico das suspensões fibrosas dos materiais lignocelulósicos tem uma grande importância na hidrólise enzimática, podendo influenciar na eficiência e nos custos de energia do processo. Segundo Stickel et al. (2009) o entendimento da reologia de biomassas é essencial para a concepção dos processos e de equipamentos. Devido a essa importância, alguns trabalhos na literatura têm estudado a reologia de algumas biomassas durante a etapa de hidrólise enzimática.

Pimenova e Hanley (2003) estudaram a reologia de suspensões de palha de milho, tendo como objetivo a avaliação da eficiência do impelidor na medição das propriedades reológicas. As suspensões de palha de milho utilizadas foram compostas de vários tamanhos de partículas de palha de milho (comprimento médio=120 mm) em suspensão na água. Comparam os parâmetros da lei de potência obtidos neste estudo com os relatados na literatura. Baseado nos resultados obtidos, concluíram que o método utilizado possibilitou medir as propriedades reológicas de forma confiável. Os parâmetros da lei de potência indicaram que as suspensões estudadas pelos autores foram menos viscosas que as suspensões obtidas na literatura. Esta diferença os autores

atribuem ao fato de terem usado uma suspensão com água, diferentemente dos dados da literatura que utilizaram solução de goma xantana.

Dasari e Berson (2007) avaliaram o efeito do tamanho das partículas na hidrólise enzimática da serragem de carvalho vermelho, bem como no comportamento reológico da suspensão ao longo da hidrólise. Eles relataram que o tamanho das partículas iniciais da biomassa utilizada tem um impacto significativo sobre a conversão de celulose em glicose e também na viscosidade da suspensão. Portanto, uma redução do tamanho das partículas pode ser uma forma de diminuir a viscosidade da suspensão e assim reduzir os custos de funcionamento e também aumentar a concentração de sólidos na reação.

Viamajala et al. (2009) avaliaram a reologia da suspensão de palha de milho em função da concentração de sólidos insolúveis (10 - 40%) e do tamanho da partícula (20 a 80 mesh). Os resultados mostraram que a suspensão teve um comportamento pseudoplástico usando um modelo de Casson. A viscosidade aparente teve um aumento com o aumento da concentração de sólidos. Na suspensão de palha de milho contendo partículas maiores, é possível que haja maiores interações entre as fibras longas, devido à fricção ou entrelaçamento, resultando em viscosidade mais elevadas.

Dunaway et al. (2010) caracterizaram o comportamento da viscosidade da palha de milho ao longo da hidrólise, com concentrações de sólidos iniciais (de 10% a 25%). Verificaram que mudança da viscosidade está relacionada com a degradação de sólidos insolúveis e com a formação de glicose. As mudanças de viscosidade ocorrem em duas fases. A viscosidade diminui rapidamente após as primeiras 8 h, atingindo um valor constante quando se aproxima de 168h. A suspensão de palha de milho é caracterizada como fluido pseudoplástico e descrita pelo modelo da lei de potência.

Wiman et al. (2011) fizeram uma análise do comportamento reológico da suspensão de abeto, avaliando os efeitos do teor sólidos e do tamanho das fibras sobre as propriedades reológicas durante a hidrólise enzimática. A viscosidade diminuiu drasticamente devido à diminuição dos sólidos insolúveis, e também, devido às alterações nas propriedades das fibras. A viscosidade demonstrou ser fortemente dependente da concentração dos sólidos insolúveis.

Pereira et al. (2011) avaliaram as características reológicas da suspensão de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor e com uma concentração de

sólidos de 10%, durante à hidrólise enzimática. A viscosidade aparente inicial era muito elevada. Observou-se que a viscosidade aparente da mistura diminuiu com o aumento da taxa de cisalhamento, comportamento característico de um fluido pseudoplástico. Concluíram que a viscosidade aparente da mistura é dependente da taxa de cisalhamento e fortemente dependente do tempo de hidrólise. Segundo os autores, o conhecimento do comportamento reológico, permite uma seleção adequada de impelidores que minimize o consumo de energia durante a etapa de hidrólise do bagaço.

Como pode ser visto, há uma grande escassez de dados referente as características reológicas durante a etapa de hidrólise de bagaço de cana-de-açúcar. O conhecimento da reologia é um dos principais parâmetros a ser estudado para a escolha adequada dos impelidores utilizados no processo, a fim de se obter uma maior eficiência na conversão da celulose em glicose (WIMAN et al., 2010; PEREIRA et al., 2011).

## **2.8 Hidrólise enzimática em batelada alimentada**

Com o objetivo de obter-se um licor de glicose mais concentrado ao final da etapa de hidrólise, uma opção é utilizar altas concentrações de sólidos durante esta etapa. Porém, cargas altas de substrato provocam problemas de inibição de enzimas, de transferência de calor e massa, alta viscosidade e elevado consumo de potência entre outros fatores que afetam a eficiência da hidrólise enzimática.

De acordo com Chen et al. (2007) a adição gradual de substrato e/ou enzimas a medida que vão sendo consumidos, reduzem os problemas de mistura, mantendo assim a viscosidade baixa da suspensão. Segundo Kristensen et al. (2009) um desafio na hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos é devido a estrutura fibrosa destes materiais que prejudicam a eficiência das enzimas. Cavalcanti-Montañó et al. (2013) relataram que o rendimento e a produtividade durante a hidrólise enzimática de biomassa podem ser aumentados utilizando as estratégias de alimentação racionais de substratos e enzimas na reação.

Há diversos trabalhos na literatura relacionados com a hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos em batelada alimentada, entre eles destacam-se:

Chen et al. (2007) fizeram um comparativo entre hidrólise em batelada simples e batelada alimentada, utilizando como biomassa o sabugo de milho pré-tratado com 1% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. A hidrólise em batelada simples foi realizada em frascos de erlenmeyer,

contendo uma mistura de 100 ml de água e substrato (não foi informado pelos autores a proporção de água e substrato) utilizando uma carga enzimática de  $20 \text{ FPU} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{substrato}}$  e  $1,64 \text{ CBU} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{substrato}}$ . A hidrólise enzimática operada em batelada alimentada iniciou-se com uma concentração de sólidos de 10% (m/v), utilizando uma carga enzimática de  $20 \text{ FPU} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{substrato}}$  e  $6,5 \text{ CBU} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{substrato}}$ . Foram realizadas duas alimentações de sólidos, após 6 e 12 horas do início da reação, chegando a uma concentração final de 20% (m/v) de substrato. Adicionou-se simultaneamente enzimas com uma carga de  $10 \text{ FPU} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{substrato}}$  e  $6,5 \text{ CBU} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{substrato}}$  em cada alimentação. Os autores obtiveram uma conversão de 67,5% na hidrólise enzimática em batelada simples e 79,5% em batelada alimentada, ambas as conversões obtidas em 60 horas de reação. Também foi possível reduzir a dosagem de enzimas utilizadas durante o processo em batelada alimentada.

Rosgaard et al. (2007), no estudo da hidrólise enzimática da palha de cevada, avaliaram diferentes condições de alimentação de substrato e/ou enzima: três reações iniciadas com concentração fixa de substrato (5, 10 e 15%; m/m); duas reações partindo de 5 e 10% (m/m) e realizando a alimentação depois de 6h e 24h [5+5+5%] e 24h[10+5%], respectivamente; e outras duas reações iniciando com 5% e 10% e alimentando substrato e enzima simultaneamente nos tempos de 6h e 24h [5%+(5%+E)+(5%+E)] e 24h [10%+(5%+E)], respectivamente. Em todas as estratégias, foi utilizada uma carga de enzima de  $7,5 \text{ FPU} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{substrato}}$ . Os resultados deste estudo mostraram que a condição com uma concentração constante de 15% foi a melhor estratégia, obtendo uma concentração de glicose de  $78 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  após 60 horas de reação.

Rabelo (2010) realizou um estudo da hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar em regime de batelada alimentada. O bagaço foi submetido a dois tipos de pré-tratamento: pré-tratado com hidróxido de cálcio e pré-tratado com peróxido de hidrogênio. Na hidrólise do bagaço pré-tratado com hidróxido de cálcio e pré-tratado com peróxido de hidrogênio, a concentração total de sólidos foi de 20% (m/v) e 10% (m/v), respectivamente. A alimentação foi realizada em dois tempos diferentes: após 6 e 12 horas de hidrólise em ambos os processos. Os resultados mostraram que aumentando a concentração de sólidos é possível aumentar consideravelmente a concentração de açúcar, porém ocorre uma redução no rendimento do processo devido à inibição das enzimas provocada justamente pela maior liberação de glicose no meio reacional.

Cavalcanti-Montaño et al. (2013) desenvolveram um modelo matemático para biorreator operado em batelada alimentada para duas estratégias de alimentação com base em equações cinéticas simples e foram validadas usando reatores de bancada. As estratégias de alimentação foram: alimentação somente de bagaço; alimentação de bagaço e enzima; e sucessivas bateladas simples. A estratégia de alimentação que apresentou o melhor resultado foi à operação em regime de batelada alimentada onde eram adicionados tanto substrato como enzima. Esta estratégia se mostrou melhor por apresentar uma sensibilidade menor às variações no preço da enzima e por atingir concentrações de glicose de aproximadamente 200 g·L<sup>-1</sup>.

Liu et al. (2015) estudaram o processo de hidrólise enzimática operando em regime de batelada alimentada utilizando bagaço de cana-de-açúcar submetido a pré-tratamento alcalino durante 96h de reação. Iniciaram os experimentos com uma carga de sólidos de 15%, sendo que após 10h adicionaram 8% de sólidos. Em 19h de hidrólise alimentou-se a reação com mais 7% de substrato e finalmente em 28h adicionou-se mais 6% de sólidos, totalizando 36% de sólidos no processo. A enzima foi adicionada nos tempos de 3, 7 e 18h de hidrólise. Concluíram que, em condições adequadas, a hidrólise enzimática com altas cargas de sólidos em regime de batelada alimentada é uma forma promissora de se obter uma maior concentração de glicose.

## **2.9 Considerações finais**

Com base no que foi exposto na revisão bibliográfica, há o muito que ser estudado sobre a produção de etanol proveniente dos materiais lignocelulósicos a fim de tornar esse produto economicamente viável.

Apesar da matéria-prima (bagaço e palha de cana-de-açúcar) estar disponível dentro da unidade de produção (com certo excedente), o principal desafio para a produção de etanol a partir dessa biomassa é reduzir os principais custos operacionais do processo, principalmente nas etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática, reduzindo o consumo de energia e a quantidade de enzimas a serem utilizadas.

Existe, também, uma falta de informações sobre uma metodologia de escolha de um sistema de impelidores que promova uma mistura eficiente na etapa de hidrólise fazendo com que aumente a conversão de celulose em glicose. Há também, uma escassez de trabalhos relacionados à hidrólise enzimática operada em regime de

batelada alimentada que investiguem diferentes estratégias de alimentação de substrato e/ou enzimas, avaliando a concentração de glicose, as características reológicas da suspensão e principalmente o consumo de potência ao longo da hidrólise enzimática de biomassas.

Outro ponto não encontrado na literatura diz respeito ao estudo do aumento de escala (do inglês, *scale-up*) para o processo de hidrólise enzimática. Assunto este, de grande relevância para avaliação da viabilidade do processo em uma escala piloto ou industrial, partindo de resultados experimentais obtidos em escala de bancada.

Diante de todas estas lacunas relacionadas à hidrólise enzimática a partir de biomassa, como bagaço e palha de cana-de-açúcar, este trabalho tem o intuito de contribuir para melhorias no processo de produção de etanol de segunda geração.

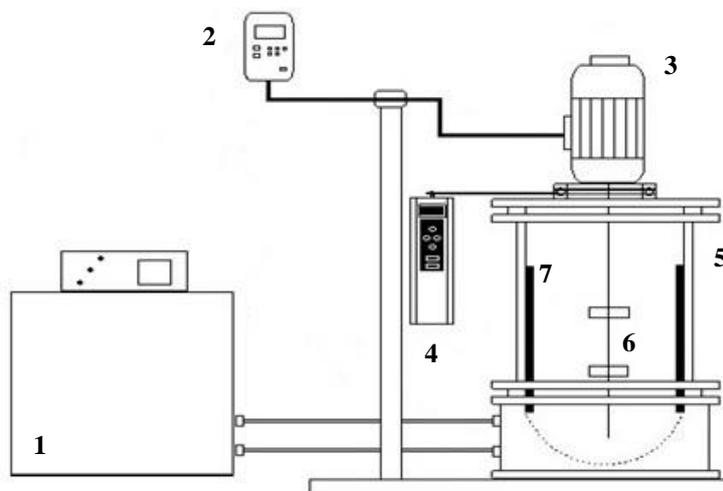
## CAPÍTULO 3 - MONTAGEM E ADEQUAÇÃO DE UMA UNIDADE EXPERIMENTAL PARA A HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS

Para a execução deste trabalho foram realizados o projeto, a construção e a operação de uma unidade experimental para realização dos experimentos de hidrólise enzimática. Neste capítulo, tem-se o detalhamento desta unidade e de todos os aparatos utilizados na execução deste estudo, bem como a descrição dos impelidores utilizados.

### 3.1 Unidade experimental

A unidade experimental projetada consiste em um reator tipo tanque agitado com volume de trabalho de 3L (volume útil de 5L), um motor de indução trifásico de alto rendimento (Voges, modelo ARB71A6 - E2260) acoplado em um rolamento situado na tampa do reator (Figura 3.1). A frequência de rotação foi ajustada através de inversor de frequência (Siemens, modelo Micro Master MM420). A temperatura da reação foi controlada por um banho ultratermostato (Ethik Technology, modelo 521-2D). Acoplado ao motor, tem-se os impelidores utilizados neste estudo e serão descritos no item subsequente.

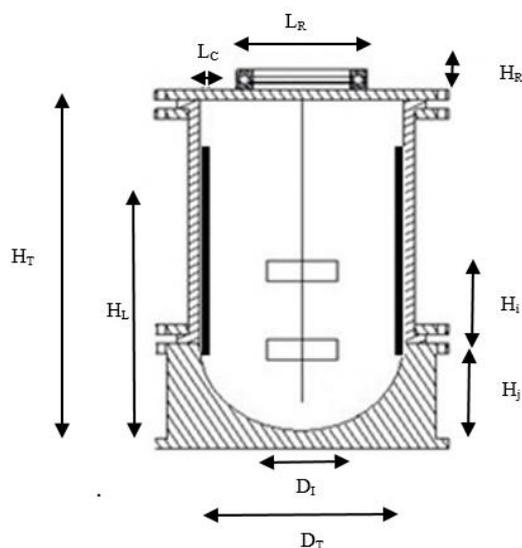
Figura 3.1 - Representação esquemática da unidade experimental: (1) Banho Ultra termostato; (2) Inversor de Frequência; (3) Motor; (4) Dinamômetro; (5) Reator; (6) Impelidores e; (7) Chicanas.



Fonte: Acervo Pessoal (2015).

Na Figura 3.2 apresenta-se, em detalhes, as medidas do reator utilizado neste estudo.

Figura 3.2 - Medidas do reator utilizado.



Fonte: Acervo Pessoal (2015).

Quadro 3.1 - Dimensões do reator.

Parâmetro geométrico	Nomenclatura	Dimensão (mm)
Altura do reator	$H_T$	370,0
Altura do líquido	$H_L$	210,0
Altura do rolamento	$H_R$	17,8
Diâmetro dos impelidores Rushton	$D_{IRT}$	76,5
Diâmetro dos impelidores <i>Elephant Ear</i>	$D_{IEE}$	80,0
Diâmetro do tanque	$D_T$	160,0
Distância entre os impelidores	$H_i$	70,0
Distância entre o impelidor e o fundo do tanque ( <i>clearance</i> )	$H_j$	70,0
Largura da chicana	$L_C$	15,0
Largura do rolamento	$L_R$	100,0

Fonte: Acervo Pessoal (2015).

O consumo de potência foi medido experimentalmente (*on-line*) através de um dinamômetro digital (Lutron, modelo FG 6005SD) visualizado na Figura 3.3. A

precisão deste equipamento em relação à força é  $\pm 0,4\%$ , em uma faixa de temperatura de  $23 \pm 5^\circ\text{C}$ .

Figura 3.3 - Dinamômetro digital utilizado nos experimentos.



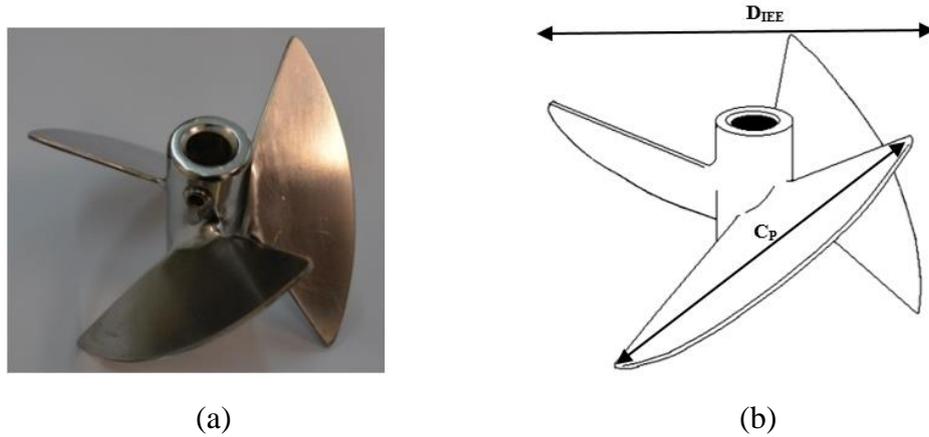
Fonte: Acervo Pessoal (2015).

### 3.2 Impelidores

Foram utilizados três tipos de impelidores (*New Brunswick Scientific*, EUA) neste trabalho.

- Impelidores conhecidos como “orelha de elefante” de fluxo ascendente ou do inglês *Elephant Ear up-pumping* (EEUP) e “orelha de elefante” de fluxo descendente ou do inglês *Elephant Ear down-pumping* (EEDP). Na Figura 3.4 tem-se a imagem do impelidor *Elephant Ear up-pumping* (a) e as dimensões deste impelidor (b). No Quadro 3.2 são apresentadas as dimensões geométricas dos impelidores. Vale ressaltar que o impelidor *Elephant Ear down-pumping* possui as mesmas dimensões que o impelidor apresentado.

Figura 3.4 - (a) Imagem do impelidor turbina Elephant Ear up-pumping (b) dimensões do impelidor.



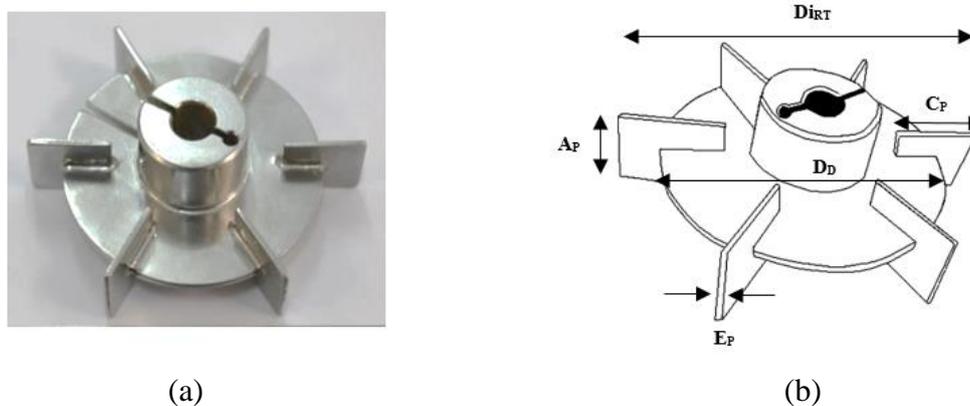
Fonte: Acervo Pessoal (2015).

Quadro 3.2 - Dimensões dos impelidores Elephant Ear.

Parâmetro geométrico	Nomenclatura	Dimensão (mm)
Altura do impelidor	$H_{IEE}$	50,0
Diâmetro do impelidor	$D_{IEE}$	80,0
Comprimento das pás	$C_P$	73,0
Inclinação das pás	$I_P$	45°

- Impelidor tipo turbina Rushton (RT), como mostrado na Figura 3.5. No Quadro 3.3 são apresentadas as dimensões geométricas deste impelidor.

Figura 3.5 – (a) Imagem do impelidor turbina Rushton. (b) dimensões do impelidor.



Fonte: Acervo Pessoal (2015).

Quadro 3.3- Dimensões do impelidor turbina Rushton.

<b>Parâmetro geométrico</b>	<b>Nomenclatura</b>	<b>Dimensão (mm)</b>
Altura do impelidor	$A_{IRT}$	20,0
Diâmetro do impelidor	$D_{IRT}$	76,5
Diâmetro do disco	$D_D$	63,0
Comprimento das pás	$C_P$	19,0
Altura das pás	$A_P$	15,0
Espessura das pás	$E_P$	1,5

A escolha dos impelidores *Elephant Ear* baseou-se no estudo de Bustamante et al. (2013). Estes autores mostraram que os impelidores EEDP e EEUP fornecem uma adequada transferência de massa e baixa taxa de cisalhamento. Este tipo de impelidor promove preferencialmente fluxos axiais e radiais. Devido a isto, a combinação destes dois tipos de fluxo é interessante para as misturas com alta viscosidade inicial, como as suspensões de biomassa durante a hidrólise enzimática. Por outro lado, a escolha do impelidor turbina Rushton, foi baseada por este tipo de impelidor ser bastante clássico nos processos industriais que envolvem mistura e agitação

## **CAPÍTULO 4 - METODOLOGIA PARA ESCOLHA DA MELHOR CONFIGURAÇÃO DE IMPELIDORES**

Neste capítulo é descrita a metodologia para determinação da melhor configuração de impelidores a ser utilizada na hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor. Avaliaram-se quatro diferentes configurações de impelidores e a escolha da melhor configuração foi baseada na eficiência de mistura, caracterizada pelo tempo de mistura. Avaliou-se também, a conversão de celulose em glicose, o consumo de potência, bem como a velocidade média de cisalhamento gerada pelos impelidores e a reologia da suspensão de bagaço ao longo da hidrólise.

### **4.1 Introdução**

Um dos principais obstáculos para a produção industrial de etanol de segunda geração se tornar viável está relacionada com a etapa de hidrólise (DASARI et al., 2009). Existem três fatores que têm maior importância nesta etapa: a concentração de sólidos, o custo do complexo enzimático e o consumo de energia para proporcionar adequadas condições de mistura. Com o aumento de sólidos no processo obtém-se um licor de glicose mais concentrado no final da hidrólise, porém isto provoca um aumento na viscosidade aparente, um maior consumo de energia e uma redução na conversão de celulose em glicose. Para minimizar esses efeitos deve-se melhorar a transferência de massa no processo de hidrólise. Em relação à transferência de massa durante a hidrólise, o principal objetivo consiste em selecionar um sistema de agitação e mistura e as condições de operação de acordo com o processo de interesse.

Um critério para escolha dos impelidores durante a hidrólise de materiais lignocelulósicos foi proposto por Pereira et al. (2011). Os dados de viscosidade aparente neste estudo foram obtidos a partir de experimentos usando apenas o impelidor do tipo turbina Rushton em escala de bancada. Esses dados foram utilizados para realizar um aumento de escala no processo com base em correlações empíricas. Assim, realizou-se a comparação do consumo de potência entre dois diferentes tipos de impelidores (Rushton e *Pitched Blade* 45°) em um reator de 100L com base apenas em correlações. Os autores utilizaram os mesmos dados de viscosidade aparente para estimar o consumo de potência para ambos os impelidores. No entanto, diferentes impelidores apresentam

diferentes desempenhos que causam perfis de viscosidade diferentes ao longo da hidrólise. Sendo assim, estudos experimentais devem ser realizados para cada tipo de impelidores.

Devido à falta de informações na literatura sobre os critérios de seleção de um sistema apropriado de agitação e mistura na hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos com base em dados experimentais, foi proposto neste capítulo uma metodologia para a escolha da configuração de impelidor um reator de tanque agitado em escala de bancada, com o intuito de aumentar a eficiência na etapa de hidrólise enzimática. A análise para a escolha da melhor configuração de impelidores foi baseada na eficiência de mistura, caracterizada pelo tempo de mistura. Avaliou-se também em termos da conversão de celulose em glicose, do comportamento reológico do meio reacional, e do consumo de energia para as todas as configurações de impelidores estudadas.

## **4.2 Materiais e métodos**

### **4.2.1 Material**

Nos experimentos foi utilizado o bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor, gentilmente doado pelo Centro de Tecnologia Canavieira (CTC - Piracicaba, SP).

Utilizou-se o complexo enzimático Cellic CTec 2 nos ensaios de hidrólise, cedido pela Novozymes Latin America - Araucária, PR. A determinação da atividade do complexo enzimático foi baseada na metodologia proposta por Ghose (1987).

### **4.2.2 Determinação da umidade**

O teor de umidade presente na biomassa utilizada neste estudo foi obtido através de um determinador de umidade (Marte, modelo ID50) no modo automático. Foi colocado aproximadamente 1 (um) grama da amostra e esta foi seca até que não houvesse mais variação de peso. A precisão do equipamento é de  $\pm 0,01$  (% umidade).

### **4.2.3 Caracterização química da biomassa**

As amostras dos materiais lignocelulósicos empregadas neste estudo foram caracterizadas quimicamente de acordo com o procedimento descrito por Rocha *et al.* (1997) e validado por Gouveia *et al.* (2009). Os materiais foram previamente moídos

em um micro moinho de facas (Willye, modelo SP - 30) para obter-se um material homogêneo, com uma granulometria de 2 mm. A metodologia padrão validada por Gouveia (2009) para caracterização química das biomassas é descrita detalhadamente nos próximos itens.

#### 4.2.3.1 Extrativos

Para a determinação de extrativos, foram adicionados 4,0g (massa seca) de biomassa (*in natura*) em um cartucho de celulose e estes foram colocados em um sistema de extração Soxhlet. Em um balão de 500 mL de fundo foram adicionados 190 mL de etanol 95% e usando uma manta (Fisatom, modelo 52E) foi aquecido.

A manta de aquecimento foi ajustada de modo a fornecer um ciclo mínimo de seis sifões por hora. Após isto, o líquido com os extrativos foi colocado em um rotoevaporador até se obter um líquido viscoso. Este líquido foi retirado e colocado em uma placa de Petri e deixado em uma capela até se obter massa constante.

A quantificação dos extrativos é determinada através da Equação 4.1.

$$\text{extrativos (\%)} = \left( \frac{M_{Bi} - M_{Bf}}{M_{Bi}} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 4.1}$$

Onde,

$M_{Bi}$  : é a massa inicial de biomassa (g);

$M_{Bf}$  : é massa de biomassa após a extração alcoólica (g).

#### 4.2.3.2 Hidrólise ácida

Pesou-se em torno de 1g de amostra (massa seca) em um béquer. Adicionou-se 10 mL de uma solução concentrada de ácido sulfúrico 72%(m/m) pré-aquecida a 45°C. Em seguida, foi realizada a mistura da solução de ácido com a amostra e com o auxílio de um bastão de vidro, agitou-se vigorosamente por 7 minutos. A reação foi interrompida com a adição de 50 mL de água destilada e a amostra foi transferida para um erlenmeyer de 500 mL, onde adicionou-se mais 225 mL de água destilada. O erlenmeyer foi colocado em uma autoclave (Fabbe-Primar, modelo 103) por 30 minutos a 1 bar e 120°C. Após retirar da autoclave, a amostra foi resfriada à temperatura ambiente e filtrada em um funil de vidro contendo um filtro qualitativo previamente pesado e seco em estufa (Fanem, modelo 320-SE) a 105°C. A fração líquida foi recolhida em um

balão volumétrico de 500 mL e o volume foi completado com água destilada proveniente da lavagem do filtro.

A fração líquida da hidrólise foi utilizada para as análises de carboidratos, ácidos orgânicos, lignina solúvel, Hidroximetilfurfural e Furfural.

#### 4.2.3.3 Determinação de lignina solúvel

Uma alíquota de 5,0 mL da fração líquida do material hidrolisado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (72%) foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e adicionou-se 1,5 mL de NaOH (6,5N), completando o volume com água destilada.

A lignina solúvel em meio ácido foi quantificada em um espectrofotômetro UV-visível (Pharmacia Biotech, modelo Ultrospec-2000), através da medida de absorbância a 280nm, utilizando uma cubeta de quartzo de 1 cm de caminho ótico.

A concentração de lignina solúvel do hidrolisado ácido foi obtida usando as Equações 4.2 e 4.3.

$$C_{\text{lig}} = 4,187 \cdot 10^{-2} \cdot (A_T - A_{\text{pd}}) - 3,279 \cdot 10^{-4} \quad \text{Equação 4.2}$$

$$A_{\text{pd}} = C_1 \cdot \varepsilon_1 + C_2 \cdot \varepsilon_2 \quad \text{Equação 4.3}$$

Onde:

$C_{\text{lig}}$  é concentração de lignina solúvel (g·L<sup>-1</sup>);

$A_T$  é a absorbância do hidrolisado ácido em 280nm;

$A_{\text{pd}}$  é absorbância de HMF e MF em 280nm calcula a partir da Equação 4.3;

$C_1$  e  $C_2$  são concentrações (g·L<sup>-1</sup>) de furfural (MF) e hidroximetilfurfural (HMF), respectivamente;

$\varepsilon_1 = 146,85 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  (MF);

$\varepsilon_2 = 114,00 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  (HMF).

#### 4.2.3.4 Determinação de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural e hidroximetilfurfural

As frações líquidas das amostras foram analisadas por cromatografia líquida (CLAE). Para as análises de carboidratos e ácidos orgânicos foi usada a coluna Aminex HPX87H (300 x 7,8 mm, Bio-Rad Laboratories Ltda) em um cromatógrafo (Shimadzu,

modelo RID-6A). Foi utilizada como fase móvel, uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5mM) a uma vazão de 0,6ML·min<sup>-1</sup> e a temperatura mantida em 45°C.

Na determinação de furfural e hidroximetilfurfural foi utilizada uma coluna μ-Bondapack C-18 (5μm) de 125 x 4mm (Hewlett-Packard) empregando como fase móvel acetronitrila/água 1:8 (v/v) e 1% de ácido acético com uma vazão de 0,8mL·min<sup>-1</sup>, e com temperatura de 25°C.

#### 4.2.3.5 Determinação de lignina insolúvel

A lignina insolúvel foi determinada pelo método Klason, modificado por Rocha et al. (1997).

O material sólido retido no filtro após a hidrólise ácida foi usado para a quantificação da lignina insolúvel. O papel filtro foi lavado com 2L de água destilada com o a finalidade de remover o ácido sulfúrico presete. Após a lavagem, o papel filtro contendo a fração sólida foi transferido para um “pesa filtro” previamente pesado e colocado em estufa a 105°C até massa constante. A porcentagem de lignina (m/m) na amostra foi calculada usando a Equação 4.4.

$$\text{Lignina insolúvel (\%)} = \left( \frac{M_k - M_c}{M_i} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 4.4}$$

Onde:

M<sub>k</sub> a massa de lignina insolúvel (g);

M<sub>c</sub> a massa de cinzas da lignina (g) e;

M<sub>i</sub> a massa da amostra seca (g).

#### 4.2.3.6 Determinação de cinzas

Os materiais resultantes da etapa de determinação da lignina insolúvel foram colocados em cadinhos de porcelana previamente calcinados e pesados e em seguida colocados em mufla (EDG equipamentos, modelo 7000) a 200°C por 30 minutos. Após, incinerou o papel filtro a 800°C durante duas horas. Os cadinhos foram retirados da mufla, colocados em um dessecador até atingir a temperatura ambiente e depois pesados. A quantificação das cinzas foi calculada através da Equação 4.5.

$$\text{cinzas (\%)} = \left( \frac{M_c}{M_A} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 4.5}$$

Onde,

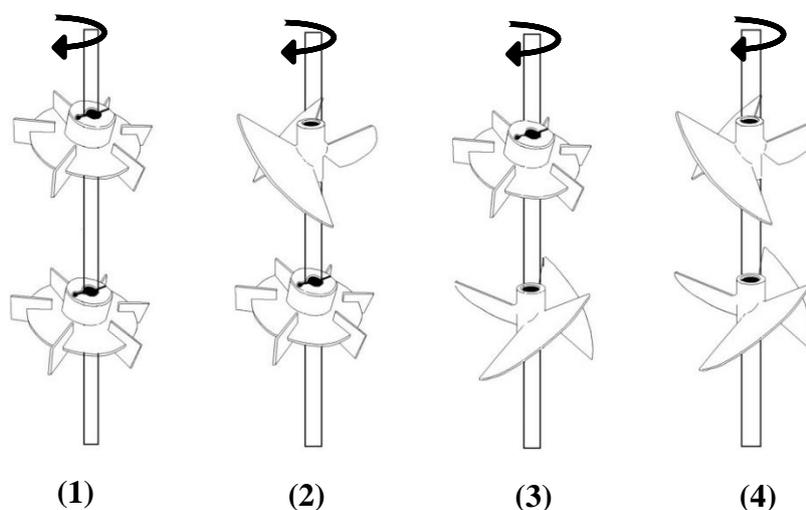
$M_C$  é a massa de cinzas (g);

$M_A$  é a massa da amostra seca (g).

#### 4.2.4 Configurações de impelidores

Avaliou-se quatro diferentes configurações de impelidores. Estas configurações foram formadas por impelidores do tipo turbina Rushton e do tipo *Elephant Ear*, de fluxo ascendente (*up-pumping*) e descendente (*down-pumping*), conforme mostrado na Figura 4.1.

Figura 4.1 - Configurações de impelidores empregadas neste estudo.



Fonte: Acervo Pessoal (2015)

Na configuração (1) tem-se a configuração padrão formada pelos impelidores RT - RT. Na configuração (2) o conjunto é constituído pelos impelidores EEDP - RT. A configuração (3) é formada pelos impelidores RT - EEUP. Na configuração (4), avaliou-se o conjunto formado pelos impelidores EEDP - EEUP.

#### 4.2.5 Tempo de mistura

O tempo de mistura ( $t_m$ ) foi determinado pelo método de pulso de temperatura. Com o auxílio de uma bomba peristáltica (Masterflex, modelo 77601-10), foi retirada uma quantidade da solução (concentração de bagaço 10% m/v e solução tampão citrato) do interior do reator (10% do volume, equivalente a  $303,1 \pm 1,1$  g), foi aquecida esta solução em um forno de micro-ondas (Brastemp, modelo BMS45ABHNA – Potência de

820 W) por 90 segundos e, imediatamente, a solução foi novamente bombeada para dentro do reator.

O tempo de mistura ( $t_m$ ) foi obtido como sendo o tempo necessário para que o valor da variável (neste estudo, a temperatura) atingisse 95% do seu valor final (TAN et al., 2011; MAGELLI et al., 2013; KORDAS et al., 2013).

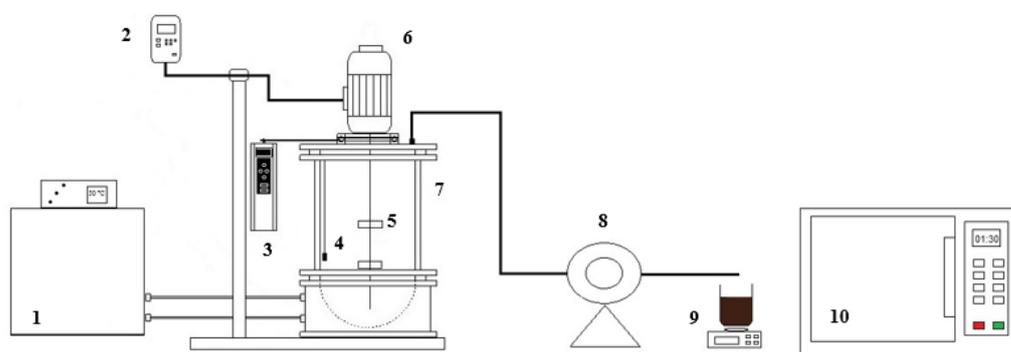
A medida da temperatura foi realizada com o auxílio de um termopar, localizado junto à parede do reator em uma altura  $z = 105$  mm do fundo do reator. A precisão do termopar é  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

O fator tempo de mistura ( $\Phi$ ) foi determinado pela Equação 4.6 proposta por Norwood e Metzner (1960).

$$\Phi = \frac{t_m (N \cdot D_i^2)^{2/3} \cdot g^{1/6} \cdot D_i^{1/2}}{H_L^{1/2} \cdot D_T^{3/2}} \quad \text{Equação 4.6}$$

Na Figura 4.2, tem-se o esquema detalhado do aparato experimental para a obtenção do tempo de mistura pelo método de pulso de temperatura.

Figura 4.2 - Representação esquemática do aparato experimental empregado para a determinação do tempo de mistura. (1) Banho Ultra termostato; (2) Inversor de Frequência; (3) Dinamômetro; (4) Termopar; (5) Impelidores; (6) Motor; (7) Reator; (8) Bomba peristáltica; (9) Balança analítica e (10) Microondas.



Fonte: Acervo Pessoal (2016)

#### 4.2.6 Hidrólise enzimática

A etapa de hidrólise enzimática foi realizada em um reator tipo tanque agitado (volume reacional de 3L), descrito no item 3.1, utilizando uma concentração de sólidos

de 10% ( $m \cdot v^{-1}$ ), carga enzimática de  $10 \text{ FPU} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{biomassa}}$ , rotação de 470 rpm, solução tampão citrato (50mM, pH 4,8) e com uma temperatura controlada de  $50,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  por um período de 96 horas. Os experimentos de hidrólise foram realizados em duplicatas para todas as configurações de impelidores avaliadas.

Foram retiradas amostras (1 mL) para quantificação da concentração de glicose nos tempos de 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 96 horas. Cada amostra foi centrifugada (centrífuga Eppendorf, modelo 5810R) por 7 minutos, com rotação de 10.000 rpm (12.857 rcf) a  $4^\circ\text{C}$ . Após isto, foram coletados 0,5 mL do sobrenadante e misturado em 0,1 mL de uma solução de NaOH (0,2N) para inativação das enzimas e armazenadas a  $-18^\circ\text{C}$ , até a realização da quantificação dos açúcares.

#### 4.2.6.1 Quantificação de glicose

A concentração de glicose foi quantificada por CLAE (cromatógrafo Shimadzu SCL-10A, detector de índice de refração RID10-A, coluna Aminex HPX-87H (300 x 7,8mm) da Bio-Rad. Como fase móvel empregou-se solução de ácido sulfúrico 5,0 mM, vazão de  $0,6 \text{ mL} \cdot \text{m}^{-1}$  (temperatura do forno:  $45^\circ\text{C}$ ). Além da quantificação por cromatografia, utilizou-se também o kit enzimático para a quantificação da glicose.

#### 4.2.6.2 Consumo de potência

A potência consumida (P) durante a etapa de hidrólise foi determinada como o produto do torque (T) requerido para a agitação do fluido pela velocidade angular do eixo do agitador ( $\omega$ ):

$$P = T \cdot \omega \quad \text{Equação 4.7}$$

O torque requerido para a agitação do fluido pelo impelidor é o mesmo torque calculado pelo produto entre a força (F) medida com o auxílio do dinamômetro (descrito no item 3.1) e o braço (b) acoplado ao eixo do motor.

Sabendo-se que para este sistema, o braço é  $b=0,175 \text{ m}$ . Logo:

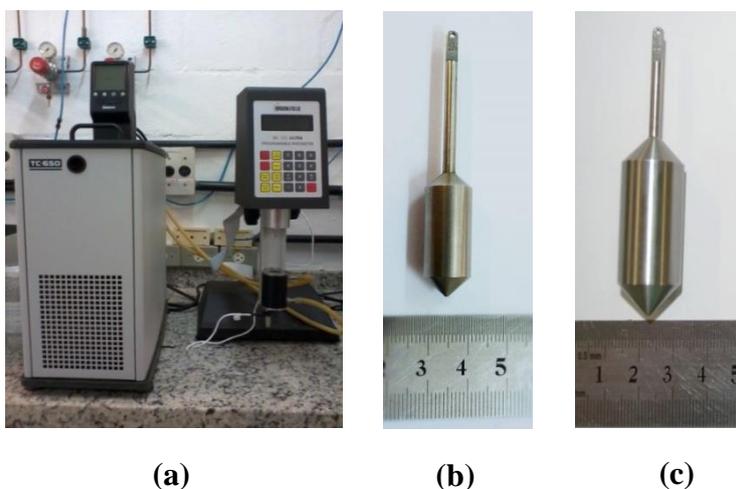
$$P = 1,10 \cdot F \cdot N \quad \text{Equação 4.8}$$

Onde as unidades de Força (F) em “N”, da rotação (N) em “ $s^{-1}$ ” e da potência (P) em “W”.

### 4.2.6.3 Análise Reológica

As medidas reológicas foram realizadas nos tempos de 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 96 horas. Empregou-se um volume de 10 mL do hidrolisado em cada análise. As medidas foram feitas em reômetro digital (Brookfield, modelo LVDV-III) com os *spindles* (SC4-31 e SC4-18), acoplado a um banho termostatizado (Brookfield, modelo TC-650MX-150) com uma temperatura mantida em 50°C conforme mostra a Figura 4.3.

Figura 4.3 - (a) Reômetro; (b) spindle (SC4 - 31); (c) spindle (SC4 - 18).



Fonte: Acervo Pessoal (2016)

A escolha dos *spindles* utilizados neste trabalho foi baseada nas recomendações do manual do equipamento, onde se recomenda o uso dos *spindles* de acordo com a faixa de torque requerido pelo líquido, isto é, o torque (%) tem que estar entre 10 e 100%. Com isso, o *spindle* SC4-31 foi utilizado nas primeiras 36 horas de experimento devido à alta viscosidade da suspensão. Após esse tempo de reação, usou-se o *spindle* SC4-18, pois era o mais adequado para a faixa de viscosidade que se encontrava a suspensão.

Com o auxílio do *software* Rheocal 3.3<sup>®</sup> foram determinados valores do índice de consistência do hidrolisado (K) e o índice de escoamento do fluido (n) ao longo da hidrólise e em todas as configurações estudadas.

Com esses dados é possível obter os valores da velocidade média de cisalhamento ( $\dot{\gamma}_m$ ) através da Equação 2.8 e conseqüentemente a viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ) da solução de bagaço ao longo da etapa de hidrólise, conforme a Equação 2.9.

### 4.3 Resultados e discussões

Na sequência estão apresentados os resultados das quatro configurações estudadas neste capítulo do trabalho. As configurações foram avaliadas em termos do tempo de mistura, da conversão de celulose em glicose, do consumo de potência, bem como das características reológicas da suspensão de bagaço ao longo da reação.

#### 4.3.1 Determinação da umidade

As amostras utilizadas de bagaço pré-tratado por explosão a vapor apresentaram um conteúdo de umidade de  $58,3 \pm 0,8\%$ .

#### 4.3.2 Caracterização química da biomassa

A Tabela 4.1 mostra a composição percentual dos constituintes do bagaço explodido de cana, determinada conforme a metodologia apresentada e validada por Gouveia et al. (2009).

Tabela 4.1 - Caracterização do bagaço explodido de cana-de-açúcar.

Componentes	%
Celulose	$43,16 \pm 0,10$
Hemicelulose	$12,44 \pm 0,14$
Lignina/Cinzas	$34,54 \pm 1,99$
<b>Total</b>	<b><math>90,14 \pm 2,02</math></b>

Os resultados encontrados na caracterização do bagaço explodido estão próximos dos trabalhos encontrados na literatura. Gouveia et al. (2009) encontraram 47,5% de celulose; 8,90% de hemicelulose; e 34,3% de lignina. Pereira et al. (2011) encontraram 43,60% de celulose; 8,75% de hemicelulose; e 33,75% de lignina e cinzas. Wanderley et al. (2013) encontraram 49,66% de celulose; 7,94% de hemicelulose; e 34,59% de lignina. Nestes trabalhos, os autores relataram que após a etapa de pré-tratamento por

explosão a vapor, o bagaço foi lavado exaustivamente para a remoção de açúcares hidrolisados, o que justifica o baixo valor de hemicelulose encontrado.

A massa específica ( $\rho$ ) do hidrolisado do bagaço de cana-de-açúcar foi determinada com o auxílio de um picnômetro e obteve-se o valor de  $1058 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ , valor este próximo ao relatado por Pereira et al. (2011) onde encontraram  $1030 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$  para a mesma suspensão de bagaço de cana.

#### 4.3.3 Tempo de mistura

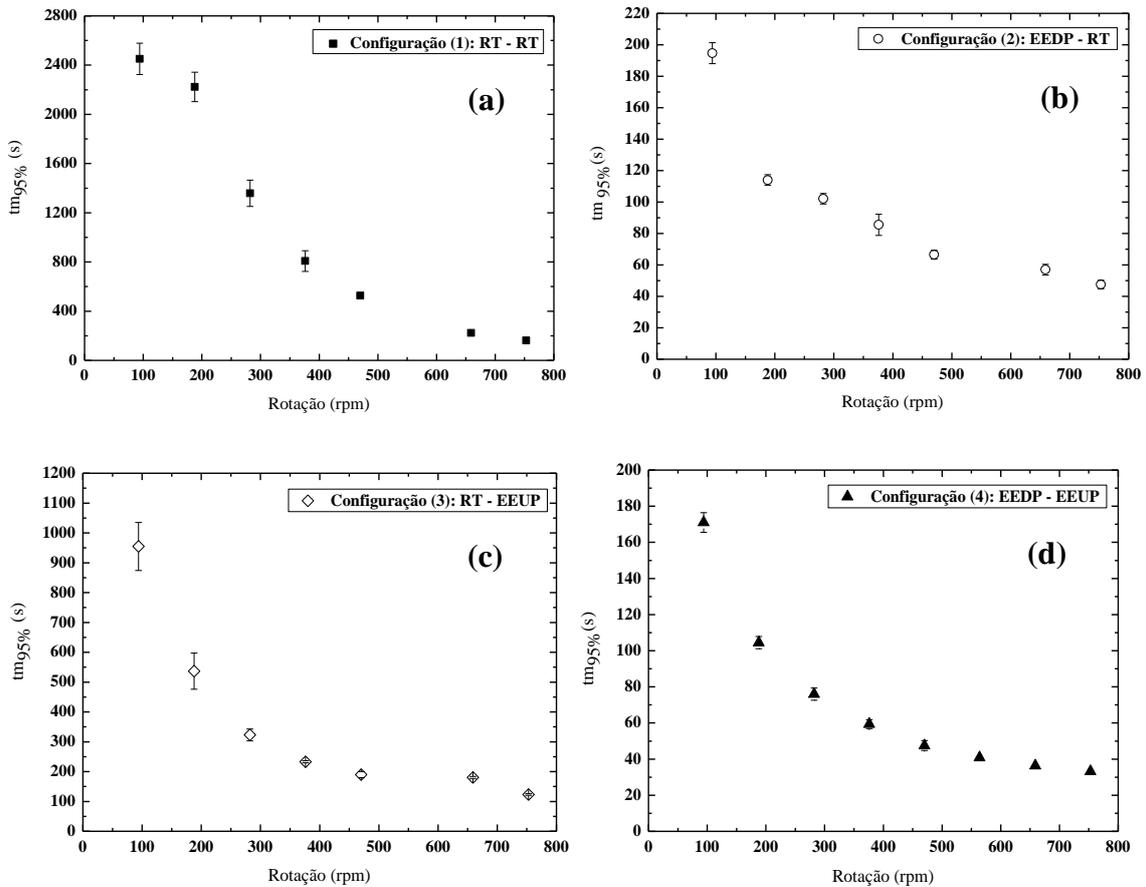
O tempo de mistura foi determinado pelo método de pulso de temperatura. Para a escolha da melhor rotação, avaliou-se a frequência de agitação em uma faixa de 94 a 753 rpm. A Tabela 4.2 apresenta os valores experimentais de tempo de mistura obtidos neste estudo com o respectivo desvio padrão. Estes experimentos foram realizados em triplicatas.

A Figura 4.4 apresenta o tempo de mistura para as diferentes configurações de impelidores e rotações utilizadas neste estudo.

Tabela 4.2 - Tempo de mistura (em “s”) para as diferentes configurações de impelidores.

<b>Rotação (rpm)</b>	<b>Configuração 1 RT - RT</b>	<b>Configuração 2 EEDP – RT</b>	<b>Configuração 3 RT - EEUP</b>	<b>Configuração 4 EEDP-EEUP</b>
<b>94</b>	2451,0±127,6	194,7±6,7	954,7±80,4	171,0±4,2
<b>188</b>	2223,0±120,0	114,0±3,3	536,7±60,4	104,5±2,3
<b>282</b>	1358,5±107,4	102,1±3,3	323,0±19,8	76,0±2,3
<b>376</b>	807,5±83,9	85,5±6,7	232,7±3,3	59,3±2,5
<b>470</b>	527,2±6,6	66,5±2,7	190,0±10,0	47,5±2,3
<b>564</b>	-----	-----	-----	40,8±0,0
<b>659</b>	223,2±6,7	57,0±3,3	180,5±3,3	36,4±0,0
<b>753</b>	161,5±3,3	47,5±2,7	123,5±2,7	33,2±0,0

Figura 4.4 - Tempo de mistura obtidos para as configurações estudadas: (a) RT-RT; (b) EEDP-RT; (c) RT-EEUP; (d) EEDP-EEUP.



Observando os resultados da Tabela 4.2 e da Figura 4.4, a configuração (4), formada pelos impelidores EEDP-EEUP, apresentou os menores valores de tempo de mistura ( $t_m$ ). Isto deve-se ao fato de que estes impelidores têm, preferencialmente, fluxo misto, ou seja, promovem fluxo radial e axial simultaneamente. Assim, esta configuração gera uma circulação intensa da suspensão no interior do reator, melhorando a homogeneização da suspensão e reduzindo significativamente o tempo de mistura.

Em todas as configurações, observou-se durante os ensaios que nas frequências de agitação inferiores a 470 rpm, o meio ficava totalmente estagnado, ocorria o chamado “efeito caverna” (McCabe et al., 2005; Wilkens et al., 2005) gerando assim a estagnação da mistura junto a parede e, comprometendo assim a eficiência da mistura. A partir da frequência de agitação de 470 rpm, inclusive, o meio reacional tornou-se mais homogêneo, alcançando uma boa eficiência da mistura.

Utilizando a configuração (4), a qual apresentou os melhores resultados, foi determinado o tempo de mistura na frequência de agitação subsequente, 564 rpm, e obteve-se uma variação no  $t_m$  de 16% menor que a rotação 470 rpm. Apesar de rotações mais altas apresentarem um tempo de mistura menor e, conseqüentemente, uma melhor mistura, estas rotações consomem mais energia, uma vez que o consumo de potência ( $P$ ) é proporcional a  $N^3$  (Equação 2.2). Desta forma, escolheu-se a rotação de 470 rpm para a realização dos experimentos de hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar.

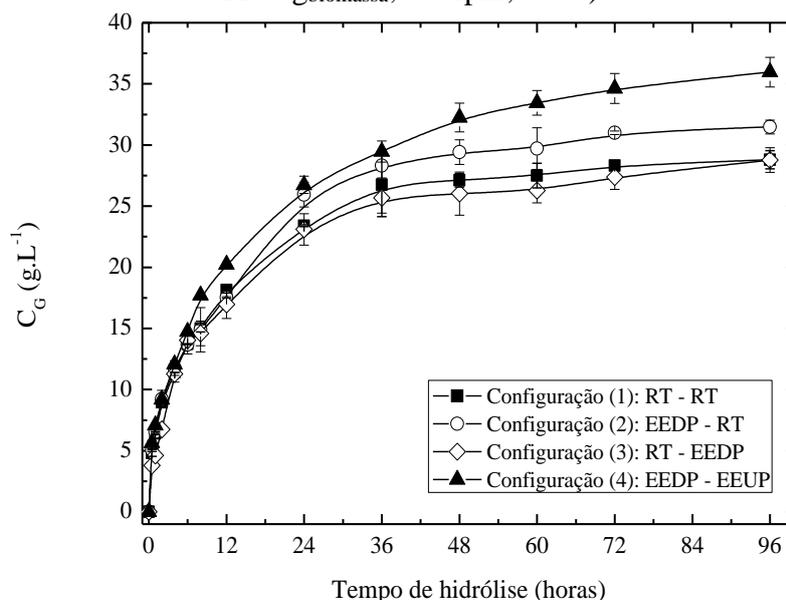
Portanto, o tempo de mistura ( $t_m$ ) foi escolhido como o parâmetro para avaliar a mistura do bagaço de cana-de-açúcar e um dos parâmetros para determinar a configuração mais adequada de impelidores para utilização no processo de hidrólise enzimática, bem como determinar a melhor rotação a ser utilizada na sequência deste estudo.

#### 4.3.4 Hidrólise enzimática

##### 4.3.4.1 Quantificação de glicose

A Figura 4.5 apresenta os valores das concentrações de glicose ( $C_G$ ) dos ensaios de hidrólise enzimática nas diferentes configurações de impelidores. Todos os ensaios foram realizados em duplicatas.

Figura 4.5 – Concentração de glicose ( $C_G$ ) ao longo da hidrólise enzimática. (10 FPU·g<sub>biomassa</sub>; 470rpm; 50°C)



Em 96h de reação, as concentrações de glicose ( $C_G$ ) foram de  $28,8 \pm 0,7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  para a configuração (1);  $31,5 \pm 0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  para a configuração (2);  $28,7 \pm 1,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  para a configuração (3) e;  $35,9 \pm 1,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  para a configuração (4).

A Figura 4.6 apresenta os dados da conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) obtidos ao longo da hidrólise nas diferentes configurações estudadas e calculada pela Equação 4.9.

$$X_{C-G} = \frac{M_{gi} \cdot f_h}{M_i \cdot \gamma_C} \cdot 100 \quad \text{Equação 4.9}$$

Onde:

$X_{C-G}$  – conversão de celulose em glicose (%);

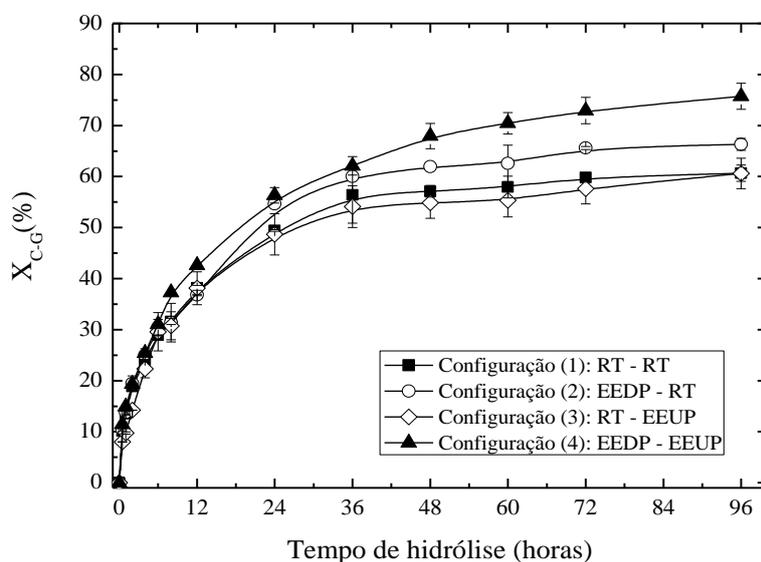
$M_{Gi}$  – massa de glicose presente no hidrolisado no ponto medido (g);

$f_h$  – fator de hidrólise da celulose (0,9);

$M_i$  – massa seca da biomassa presente no ponto medido (g) e;

$\gamma_C$  – teor de celulose presente na biomassa.

Figura 4.6 - Conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) ao longo da hidrólise.



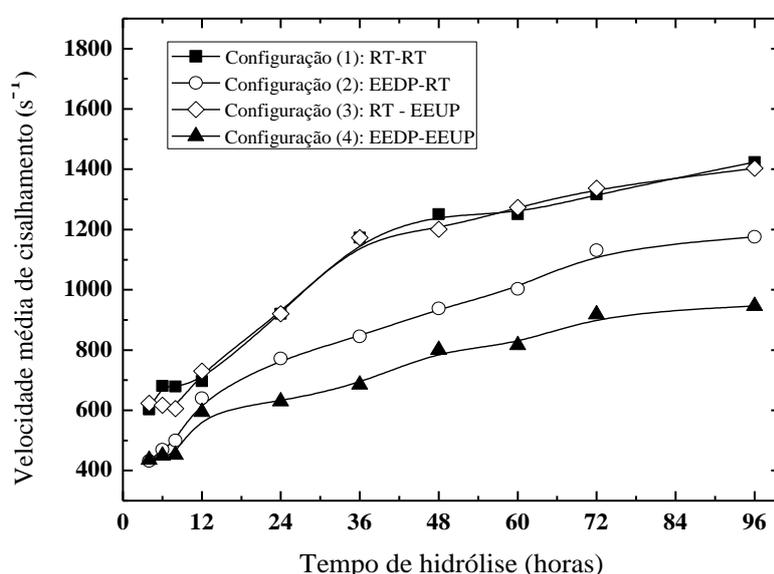
A conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) em 96 horas foi de 60,7%; 66,3%; 60,6% e 75,7% para as configurações (1), (2), (3) e (4), respectivamente.

Nota-se que a configuração (4) foi a que apresentou os melhores resultados em termos de concentração de glicose e consequentemente de conversão de celulose em

glicose. Estes resultados se devem ao fato da configuração (4), conforme discutido anteriormente, ter promovido uma melhor homogeneização do meio reacional quando comparada as demais configurações estudadas.

Esta superioridade em termos de conversão da configuração (4) em relação às configurações que continham os impelidores Rushton, pode estar relacionada com a alta velocidade média de cisalhamento que os impelidores Rushton promovem. Isto pode ser observado nos dados da velocidade média de cisalhamento ao longo da hidrólise enzimática apresentados na Figura 4.7.

Figura 4.7 - Velocidade média de cisalhamento ( $\dot{\gamma}_m$ ) em função do tempo de hidrólise para as configurações estudadas com uma rotação de 470 rpm.



A velocidade média de cisalhamento ( $\dot{\gamma}_m$ ) para as configurações de impelidores avaliadas variou de 602,84 a 1423,49  $s^{-1}$  (RT-RT); 431,99 a 1175,33  $s^{-1}$  (EEDP - RT); 622,96 a 1402,91  $s^{-1}$  (RT - EEUP); e 435,29 a 946,49  $s^{-1}$  (EEDP - EEUP).

No final da reação (96 h) a velocidade de cisalhamento da configuração padrão (1) foi aproximadamente 1,5 vezes (55%) maior que a da configuração (4). A Figura 4.7 mostra que as configurações que continham o impelidor de fluxo radial (RT) apresentaram maior cisalhamento quando comparado com a configuração (4) que foi formada somente por impelidores de fluxo misto (EEDP e EEUP). Este comportamento também foi observado por Collingnon et al. (2010) e Bustamante et al. (2013).

A alta velocidade média de cisalhamento causada pelos impelidores Rushton quando comparado com os impelidores *Elephant Ear* (Figura 4.7) promoveu um aumento de inibidores solúveis/desativadores no meio reacional causando a inibição das enzimas. Os valores destes inibidores/desativadores encontrados ao final de 96h de hidrólise são apresentados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 - Dados de inibidores/desativadores em 96 horas de hidrólise.

<b>Configuração</b>	<b>Conversão (%)</b>	<b>HMF (g·L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Furfural (g·L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Ácido Acético (g·L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Ácido Fórmico (g·L<sup>-1</sup>)</b>
<b>RT – RT</b>	60,7	0,12	0,83	3,32	1,66
<b>EEDP - RT</b>	66,3	0,11	0,67	2,54	1,07
<b>RT – EEUP</b>	60,6	0,12	0,73	3,56	1,40
<b>EEDP – EEUP</b>	75,7	0,10	0,58	nd	nd

*HMF*: Hidroximetilfurfural; nd: não detectado.

A concentração destes compostos apresentou a seguinte sequência: configuração (1) > configuração (3) > configuração (2) > configuração (4). Enquanto a conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) apresentou a seguinte sequência: configuração (4) > configuração (2) > configuração (3) > configuração (1).

#### 4.3.4.2 Consumo de potência

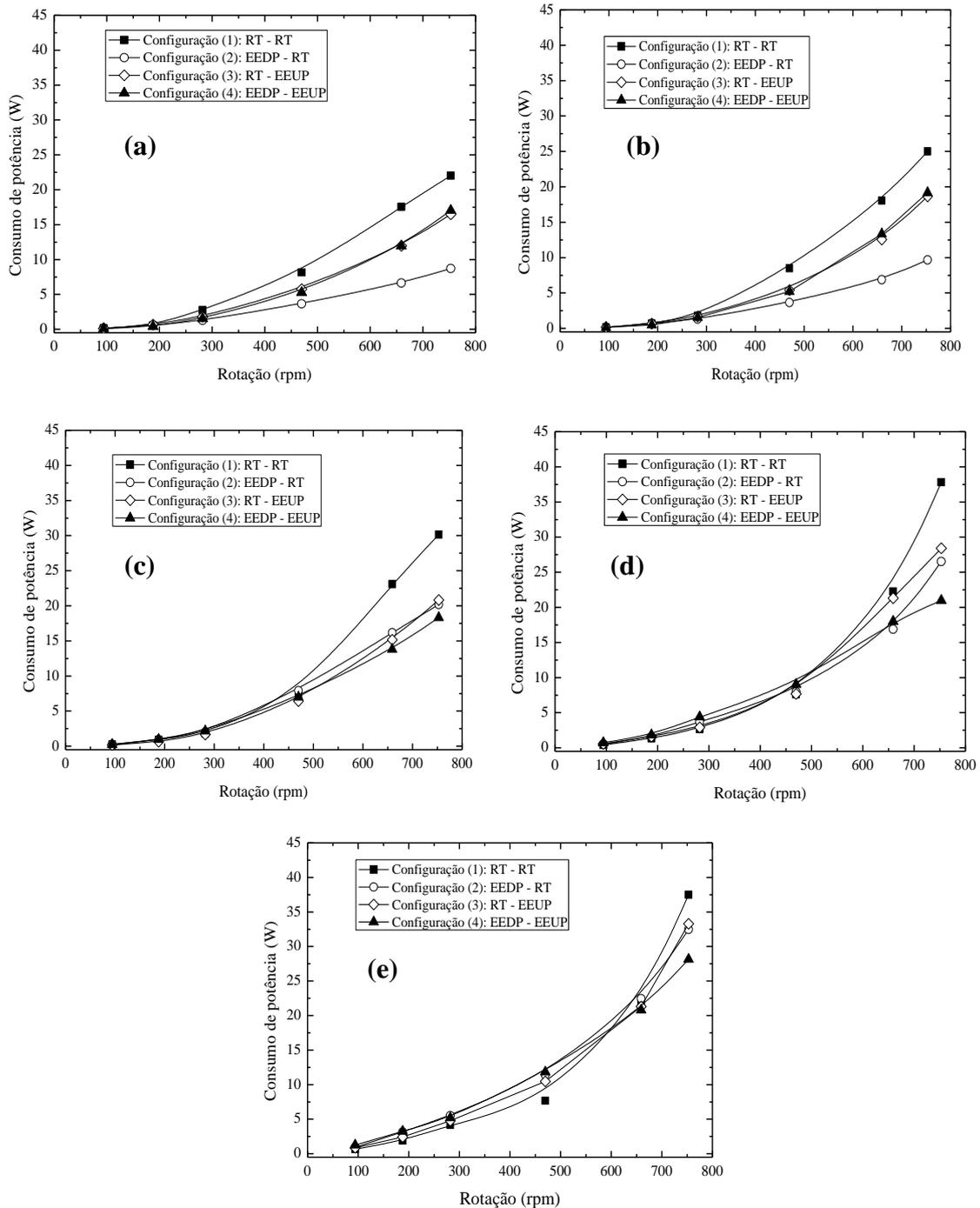
Inicialmente foi realizado um teste para a medição do consumo de potência dos impelidores variando gradativamente a concentração de sólidos ( $C_S$ ). Este ensaio teve como objetivo verificar o consumo no tempo inicial ( $t=0$ ), ou seja, sem a adição de enzima. Foram colocados os mesmos componentes usados na hidrólise, exceto a enzima. Dessa forma, pôde-se avaliar o consumo de potência que cada configuração de impelidor teria inicialmente.

O teste inicial foi realizado empregando solução com concentração de sólidos de 2%. Após, foi adicionado massa de bagaço de forma a totalizar 4% de sólidos na solução. E assim sucessivamente, até atingir concentração final de 10% de sólidos em solução. Em todos os testes foram usadas as quatro configurações de impelidores e sendo todas as medidas realizadas em quintuplicatas. O desvio padrão em todos os

experimentos de consumo de potência variando a concentração de sólidos e rotação foi menor que 3%.

Na Figura 4.8 são apresentados os resultados deste teste inicial, avaliando diferentes concentrações de sólidos.

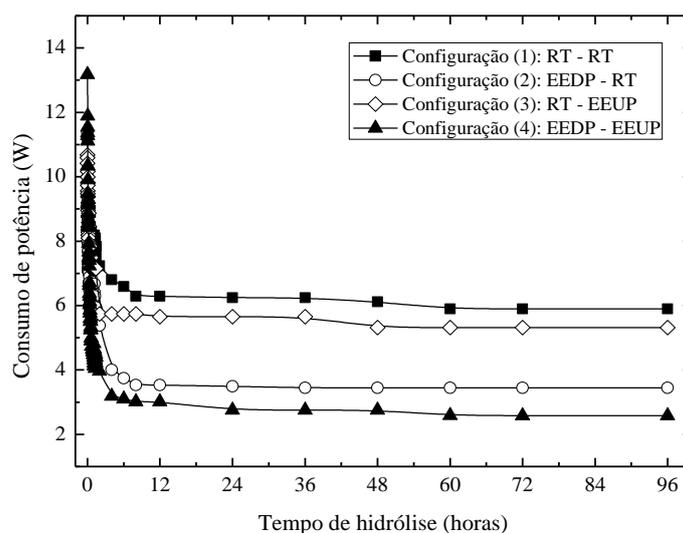
Figura 4.8 - Consumo de potência em diferentes rotações com diferentes concentrações de sólidos: (a)  $C_s = 2\%$ ; (b)  $C_s = 4\%$ ; (c)  $C_s = 6\%$ ; (d)  $C_s = 8\%$ ; (e)  $C_s = 10\%$ .



Observa-se na Figura 4.8, que a configuração (1) formada pelos impelidores RT - RT teve um consumo de potência maior que os demais em quase todas as rotações e concentrações de sólidos utilizadas. Porém, na Figura 4.8 (e), com uma concentração de sólido de 10%, nota-se que o consumo de potência dessa configuração foi, em rotações baixas, menor que as demais. Isto é explicado pelo fato de ter ocorrido o chamado “efeito caverna”, formando assim regiões de estagnação no interior do reator. Isto é, os impelidores só conseguiram uma agitação eficiente ao seu redor, sendo que na região próxima à parede o meio reacional fica totalmente estagnado (McCABE et al., 2005; WILKENS et al., 2005). Nas rotações mais elevadas (470, 659 e 753 rpm, com carga de sólidos de 10%) esse efeito não ocorreu e isso fica evidente, até mesmo visualmente e comprovado pelos resultados onde o consumo de potência nestas rotações foi como o esperado, ou seja, maior que nas demais configurações.

Em seguida, foram realizados os ensaios de hidrólise enzimática (descrito no item 4.2.6) e, novamente, avaliadas as quatro configurações. Foram realizados na melhor rotação (470 rpm) determinada pelos resultados obtidos no experimento de tempo de mistura (item 4.2.5). Na Figura 4.9 estão apresentados os perfis de torque, e conseqüentemente, o consumo de energia das quatro configurações estudadas.

Figura 4.9 – Consumo de potência (P) das quatro configurações de impelidores durante a hidrólise enzimática do bagaço.



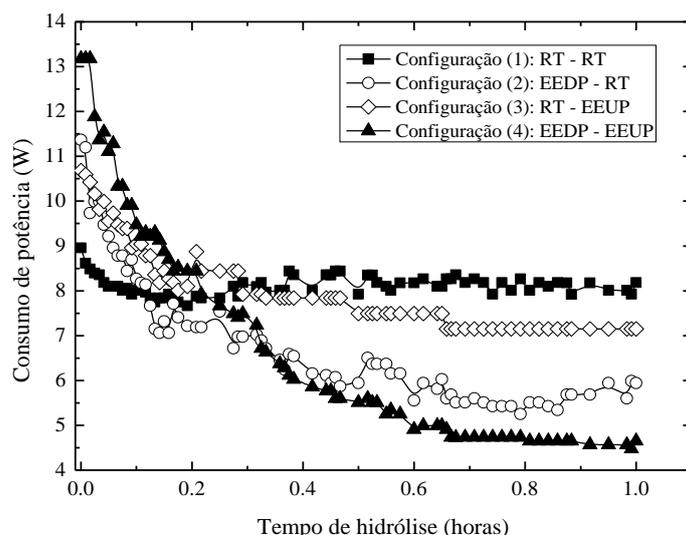
O consumo de potência, de todas as configurações avaliadas, teve uma redução significativa nas primeiras horas de hidrólise. Esse comportamento pode ser explicado

devido à rápida hidrólise das fibras do bagaço ocasionada pela ação das enzimas, modificando assim a viscosidade aparente do hidrolisado ao longo do experimento.

Essa rápida redução no consumo de energia também foi observada por Dasari, Dunaway e Berson (2009) e Palmqvist e Lidén (2012) nos estudos com palha de milho e arundo, respectivamente.

Observa-se na Figura 4.10, que o consumo inicial da configuração (4) foi maior que as demais, devido esta configuração apresentar uma melhor homogeneização do meio reacional, fazendo com que as enzimas atuassem desde o início da reação de uma forma homogênea, consumindo assim maior energia para isso. Nas demais configurações a agitação é comprometida nos primeiros minutos de reação, justificando o consumo de energia inferior. Visualmente foi observado o “efeito caverna” (McCabe et al., 2005; Wilkens et al., 2005) ou também chamado de “zona morta” que gera uma região de estagnação do meio reacional junto a parede do reator, exceto na configuração (4). Ao passar do tempo (aproximadamente 30 minutos) esse consumo de potência, para as configurações (1), (2) e (3) tornou-se maior em relação à configuração (4) devido à suspensão ter se tornada homogênea. Esse fato pode ser comprovado pelos resultados apresentados na Figura 4.10 que mostra a potência consumida na primeira hora de reação.

Figura 4.10 - Consumo de potência (P) durante a primeira hora de hidrólise.



Esta região de estagnação ou "zona morta" foi causada devido aos impelidores Rushton apresentarem, predominantemente, fluxo radial (Configuração 1, 2 e 3). Este

efeito foi observado na primeira hora de hidrólise devido à elevada viscosidade aparente do meio. A fim de minimizar este efeito, poderia se trabalhar com uma agitação mais elevada, porém consequentemente aumentaria o consumo de potência significativamente ( $P$  é proporcional a  $N^3$ ). Por outro lado, a configuração (4) tornou a mistura bastante eficaz e homogênea durante toda a hidrólise, devido aos impelidores apresentarem fluxo radial e axial simultaneamente.

Após a primeira hora de hidrólise, o "efeito caverna" desaparece e o consumo de energia das configurações (1), (2) e (3) torna-se maior do que o consumo de energia da configuração (4) no restante da reação. Este fato é evidenciado nos resultados apresentados na Figura 4.10.

A energia consumida ( $\bar{E}$ ) durante toda a etapa de hidrólise (96 horas) pode ser estimada através da Equação 4.10.

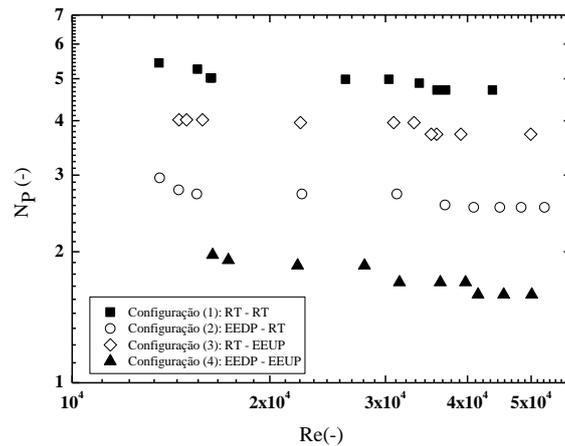
$$\bar{E} = \int_0^{96\text{h}} P(t) \cdot dt \quad \text{Equação 4.10}$$

A energia consumida ( $\bar{E}$ ) para as configurações (1), (2), (3) e (4) foi 627,9 W·h (209,3 kW·m<sup>-3</sup>); 343,9 W·h (114,6 kW·m<sup>-3</sup>); 528,6 W·h (176,2 kW·m<sup>-3</sup>); e 267,1 W·h (89,0 kW·m<sup>-3</sup>), respectivamente.

Com os valores de consumo de potência ( $P$ ), da geometria dos impelidores, da massa específica do meio reacional calculou-se, através da Equação 2.2, o número de Potência ( $N_P$ ) ao longo da hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar, na rotação de 470 rpm, para todas as configurações de impelidores. Na determinação do número de Potência das configurações (2) e (3) foi considerado um diâmetro médio ( $D_i = 0,078$  m) dos impelidores RT, EEDP e EEUP.

De acordo com Nagata (1975), quando o número de Reynolds ( $Re$ ) é superior a  $1 \times 10^4$ , o regime turbulento é atingido. Nesta região de turbulência,  $N_P$  é constante e o consumo de potência ( $P$ ) já não é dependente da viscosidade do fluido. A Figura 4.11 mostra a relação do número de Potência ( $N_P$ ) em função do número de Reynolds ( $Re$ ) obtida no regime turbulento.

Figura 4.11 - Número de Potência ( $N_P$ ) em função do número de Reynolds ( $Re$ ).



Os valores encontrados para  $N_P$ , no regime turbulento, das quatro configurações foram: configuração (1):  $4,97 \pm 0,17$ ; configuração (2):  $2,66 \pm 0,12$ ; configuração (3):  $3,88 \pm 0,13$  e; configuração (4):  $1,75 \pm 0,12$ .

Na região turbulenta, o valor mais baixo de  $N_P$  foi obtido na configuração (4) enquanto que o valor mais elevado foi obtido com a configuração padrão (RT - RT). Estes resultados são devido ao menor esforço que os impelidores da configuração (4) necessitaram para mover a suspensão do bagaço da cana-de-açúcar. Deve-se ressaltar que a quantificação do adimensional de Reynolds ( $Re$ ) e número de Potência ( $N_P$ ) são muito importantes para as estratégias de aumento de escala de reatores.

De acordo com Dasari et al. (2009), o consumo de energia do sistema é um fator econômico de extrema importância em escala industrial. Portanto, um parâmetro adequado, definido como eficiência energética ( $E_E$ ) dada pela razão entre a conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) e o consumo total de energia ( $\bar{E}$ ), foi proposto neste presente trabalho para a comparação do desempenho das configurações de impelidores na hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar, conforme a Equação 4.11.

$$E_E = \frac{X_{C-G}}{\bar{E}} \quad \text{Equação 4.11}$$

Os valores encontrados de eficiência energética foram: configuração (1)  $26,9 \text{ \%} \cdot \text{MJ}^{-1}$ ; configuração (2):  $53,5 \text{ \%} \cdot \text{MJ}^{-1}$ ; configuração (3):  $31,9 \text{ \%} \cdot \text{MJ}^{-1}$  e; configuração (4):  $78,9 \text{ \%} \cdot \text{MJ}^{-1}$ .

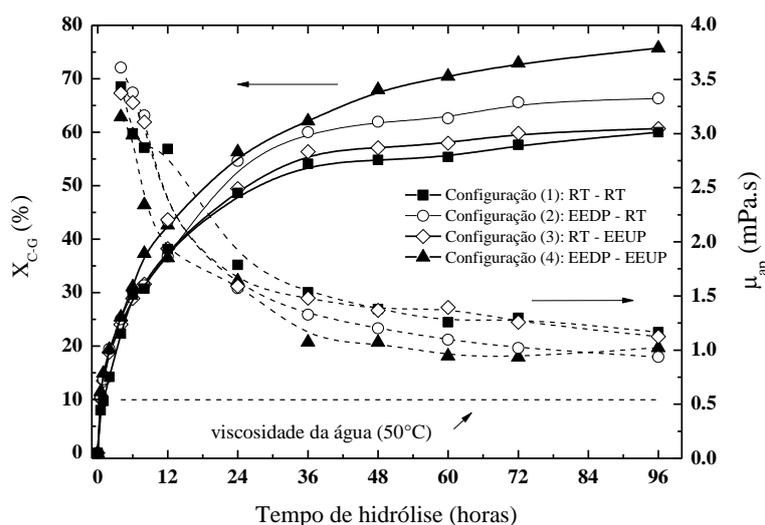
Mais uma vez, pode-se observar a grande superioridade da configuração (4) em relação às demais configurações, com um valor de eficiência energética ( $E_E$ ) cerca de três vezes maior do que o valor encontrado para a configuração padrão (RT - RT).

### 4.3.4.3 Análise reológica

Devido à alta viscosidade que o meio se encontrava, as medidas reológicas só foram possíveis depois de transcorridas quatro horas de reação. Sendo assim, foram realizadas nos tempos de 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 96 horas.

Conhecendo os valores de massa específica do hidrolisado ( $\rho$ ), os parâmetros reológicos do meio reacional ( $K$  e  $n$ ), o diâmetro médio das configurações dos impelidores ( $D_i$ ), e o número de potência ( $N_p$ ), a viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ) do hidrolisado ao longo da reação pode ser calculada através das Equações 2.8 e 2.9. A Figura 4.12 ilustra o comportamento da viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ) durante a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para os sistemas de impelidores estudados.

Figura 4.12 - A viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ) e conversão de celulose em glucose ( $X_{C-G}$ ) em função do tempo de hidrólise para diferentes configurações de impelidores.



A viscosidade aparente na configuração (1) variou de 3,44 a 1,16 mPa.s. A configuração (2) obteve valores de viscosidade entre 3,61 a 0,94 mPa.s. Na configuração (3) a viscosidade variou de 3,37 a 1,12 mPa.s e na configuração (4) a viscosidade variou de 3,15 a 1,02 mPa.s.

Os resultados mostram que a viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ) diminui mais rapidamente durante as primeiras 24h da hidrólise enzimática, e mais lentamente, após 60h. Durante a reação, houve uma redução do índice de consistência ( $K$ ) e um aumento do índice de escoamento ( $n$ ), provocando um aumento na velocidade média de cisalhamento (Figura 4.12) e conseqüentemente uma redução na viscosidade aparente do meio reacional durante a hidrólise enzimática. De acordo com Dasari e Berson (2007), essa queda da

viscosidade aparente durante a hidrólise enzimática é devido à redução da concentração de sólidos e a fragmentação das fibras do material lignocelulósico. Esta diminuição da  $\mu_{ap}$  com o aumento da  $\dot{\gamma}_m$  é típico de fluido pseudoplástico, como é o caso do hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar.

Este mesmo comportamento foi observado em estudos de reologia de hidrolisados de diferentes biomassas: palha de milho (Pimenova e Hanley, 2003; Viamajala et al., 2009; Dunaway et al., 2010; Du et al., 2014, Liu et al. 2015); serragem de carvalho vermelho (Dasari e Berson, 2007); abeto (Wiman et al., 2011) e; bagaço de cana-de-açúcar (Pereira et al., 2011; Corrêa et al., 2013; Corrêa et al., 2014).

#### 4.4 Conclusões

A metodologia proposta de tempo de mistura foi adequada para a escolha da melhor configuração de impelidores, bem como para determinar a melhor rotação a ser utilizada na hidrólise enzimática.

A configuração (4) apresentou uma melhor homogeneização do meio reacional, tal como evidenciado através dos baixos tempos de mistura. Também apresentou os melhores resultados em termos da conversão da celulose frente às demais configurações. Obteve-se um acréscimo de 24,7%; 14,5% e; 24,9% na conversão de celulose em glicose comparada com as configurações (1), (2) e (3), respectivamente. Apesar do consumo de energia inicial da configuração (4) tenha sido maior que nas outras configurações, a energia consumida durante toda a hidrólise (96 horas) foi 135,1%; 28,7% e 97,9% menor que a configuração (1), (2) e (3), respectivamente. Os resultados de reologia apresentados mostram que a viscosidade aparente do hidrolisado decresce com o aumento da velocidade de cisalhamento e também ao longo da reação.

Além disso, o uso de impelidores do tipo *Elephant Ear* atenuou os efeitos negativos causados por inibidores solúveis/desativadores durante a hidrólise.

## **CAPÍTULO 5 - HIDRÓLISE ENZIMÁTICA EM BATELADA E BATELADA ALIMENTADA**

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos em um estudo de hidrólise enzimática empregando diferentes estratégias de alimentação de bagaço e/ou enzimas. O objetivo deste estudo foi aumentar a eficiência energética, ou seja, obter um acréscimo na concentração de glicose associado a um baixo consumo de energia durante a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor. Para tal, foram avaliadas duas formas diferentes de operação: batelada e batelada alimentada. Determinou-se para as estratégias avaliadas, a concentração de glicose, conversão de celulose em glicose, o consumo de potência, bem como a eficiência energética e o comportamento reológico da suspensão de bagaço de todas as estratégias ao longo da hidrólise.

### **5.1 Introdução**

Com o intuito de aumentar a eficiência energética do processo de hidrólise e consequentemente um aumento na concentração de etanol na etapa seguinte, a fermentação, é necessário trabalhar com altas cargas de sólidos durante a etapa de hidrólise. Esse aumento de sólidos acarreta uma maior concentração de açúcares no meio reacional e segundo Rudolf et al. (2005), Furlan et al. (2013) e Cui et al. (2014) torna-se o processo mais viável em relação ao gasto de energia na etapa de destilação, favorecendo a diminuição da água no processo.

Entretanto, a realização da hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos com alta concentração de sólidos (15 - 20% massa seca) tem-se uma grande dificuldade de se trabalhar (MOHAGHEGHI et al., 1992; CANELLA et al., 2014, TAI et al., 2015). Com esse aumento de substrato, a conversão da celulose em glicose durante a hidrólise enzimática pode ser afetada por diversos fatores, entre eles estão: inibição das enzimas (Rabelo, 2010; Puri et al., 2013), alta viscosidade inicial da suspensão fibrosa (Rosgaard et al., 2007; Hodge et al., 2009; Gupta et al., 2012), problemas de transferência de calor e massa (Rudolf et al., 2005; Liu et al., 2015) agitação comprometida e o alto consumo inicial de potência (Corrêa et al., 2015a).

Para minimizar estes problemas, os processos operados em regime de batelada alimentada surgem como uma alternativa viável e promissora para a obtenção de uma

concentração elevada de glicose associada a um baixo consumo de energia no processo de hidrólise enzimática a partir de biomassa.

Além das vantagens de trabalhar em regime de batelada alimentada, outro fator não mencionado na literatura é em relação ao consumo de potência. Ao reduzir a viscosidade da suspensão (com uma melhor agitação do meio), conseqüentemente ocorrerá uma redução no consumo de potência durante o processo, fato este que é muito importante nos custos globais do processo e em um provável aumento de escala (CORRÊA et al., 2015b). Estes fatores demonstram ainda mais as vantagens da utilização de processos em regime de batelada alimentada.

Diante da lacuna no que diz respeito a avaliação de parâmetros de desempenho como eficiência energética, características reológicas e o consumo de potência durante o processo de hidrólise enzimática em regime de batelada alimentada, este estudo investigou diferentes estratégias de alimentação de substrato e/ou enzima, a fim de melhorar a eficiência energética (massa de glicose produzida pela energia consumida) durante a hidrólise enzimática do bagaço de cana pré-tratado por explosão a vapor.

## **5.2 Materiais e métodos**

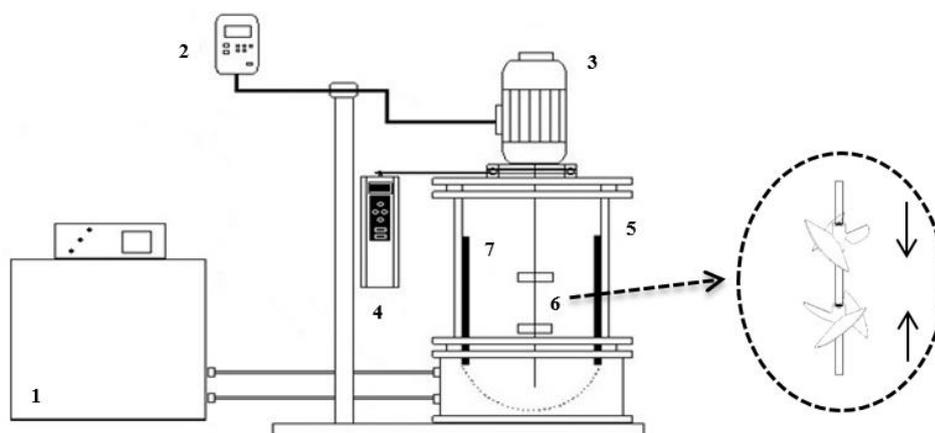
### **5.2.1 Materiais**

Para a realização dos experimentos deste capítulo foi empregado amostras de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor descrito no item 4.2.1. O conteúdo de umidade das amostras empregadas nesta etapa foram de  $59,9 \pm 1,6\%$ . O complexo enzimático utilizado nos experimentos foi a Cellic CTec 2, descrita no item 4.2.1.

### **5.2.2 Estratégias de batelada e batelada alimentada**

Os experimentos de hidrólise enzimática em batelada e batelada alimentada foram realizados em uma unidade experimental com um reator de tanque agitado com volume de 3L, conforme descritos no item 3.1 e visualizada na Figura 5.1. Utilizou-se uma solução tampão citrato (50mM, pH 4,8) e com uma temperatura controlada de  $50,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  por um período de 96 horas. A configuração de impelidores (EEDP – EEUP) e a frequência de agitação (470 rpm) empregadas nesta etapa foram baseadas nos resultados obtidos no Capítulo 4 deste trabalho. Todas as estratégias foram avaliadas em ensaios realizados em duplicata.

Figura 5.1 - Unidade experimental: (1) Banho Ultra termostato; (2) Inversor de Frequência; (3) Motor; (4) Dinamômetro; (5) Reator; (6) Impelidores *Elephant Ear* e; (7) Chicanas.



Fonte: Acervo Pessoal (2016)

Avaliou-se uma estratégia de batelada simples e cinco diferentes condições de alimentação em regime de batelada alimentada, tendo como objetivo atingir altas concentrações de glicose associada a um menor consumo de potência ao longo do processo. Na Tabela 5.1 são apresentadas as estratégias avaliadas neste trabalho.

Tabela 5.1 - Condições de alimentação dos ensaios de hidrólise em batelada alimentada.

Estratégia de alimentação (E)	Substrato (% m/v) e Enzima (En)	Volume de enzima em cada alimentação (mL)	Tempo de alimentação (h)
E1	20 (En)	29,55	0
E2	10 (En)+5+5	29,55	0 – 1 – 2
E3	5(En) +5+5+5	29,55	0 – 0,5 – 1 – 2
E4	5(En)+5+5+5	29,55	0 – 2 – 12– 24
E5	5(En)+5(En)+5(En)+5(En)	7,39 (Volume total: 29,55)	0 – 2 – 12– 24

Nas estratégias E1 e E5 a dosagem de enzima foi constante ao longo do experimento ( $10 \text{ FPU} \cdot \text{g}_{\text{substrato}}$ ); Nas estratégias E2, E3 e E4, a dosagem da enzima foi baseada na concentração de substrato no final da reação, ou seja, 20% em 96h de hidrólise.

A escolha dessas condições teve os seguintes objetivos:

- [E1]: avaliar a concentração constante de sólidos e enzima desde o início da reação, processo em batelada simples;
- [E2] e [E3]: avaliar o efeito de diferentes concentrações iniciais de substrato;
- [E3] e [E4]: avaliar diferentes tempos de alimentação de substrato e;
- [E5]: avaliar o efeito da adição de substrato e enzima simultaneamente. Sendo que a alimentação foi realizada na melhor estratégia entre E3 e E4, em termos da eficiência energética (massa de glicose por energia consumida,  $\text{kg}_{\text{glicose}} \cdot \text{kWh}^{-1}$ ).

Na estratégia E1, substrato (20%) e enzima ( $10 \text{ FPU} \cdot \text{g}_{\text{substrato}}$ ) foram adicionados no início do processo. Na estratégia E2 e E3 toda a carga de enzima (baseada na concentração final de sólidos, 20%) foi adicionada no início da hidrólise e o substrato foi dividido em alimentações nos tempos de 0; 1 e 2h (E2), e 0; 0,5; 1 e 2h (E3). Na estratégia E4, toda a carga de enzima (baseada na concentração final de sólidos, 20%) foi adicionada no início do processo e o substrato foi adicionado nos tempos de 0; 2 ;12 e 24 h. Na estratégia E5, a enzima e o substrato foram adicionados simultaneamente em 0; 2; 12 e 24h, a fim de manter uma concentração de enzima constante durante todo o experimento ( $10 \text{ FPU} \cdot \text{g}_{\text{substrato}}$ ).

Nas estratégias E1 e E5 a dosagem de enzima foi constante ao longo do experimento ( $10 \text{ FPU} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{substrato}}$ ). Nas estratégias E2, E3 e E4, a dosagem de enzima foi baseada na concentração de substrato no final da reação (20% de sólidos em 96h de hidrólise). Portanto, as estratégias E2 e E3 tiveram uma razão de enzima/substrato maior nas primeiras duas horas de hidrólise, enquanto a estratégia E4 teve uma proporção enzima/substrato maior durante as primeiras 24h de hidrólise. Por outro lado, as estratégias E1 e E5 mantiveram constante a relação enzima/substrato ao longo de todo o processo.

### **5.2.2.1 Análise de glicose**

A quantificação da concentração de glicose foi determinada de acordo com o item 4.2.6.1

### **5.2.2.2 Consumo de potência**

A estimativa do consumo de potência foi determinada conforme o item 4.2.6.2.

### 5.2.2.3 Análise reológica

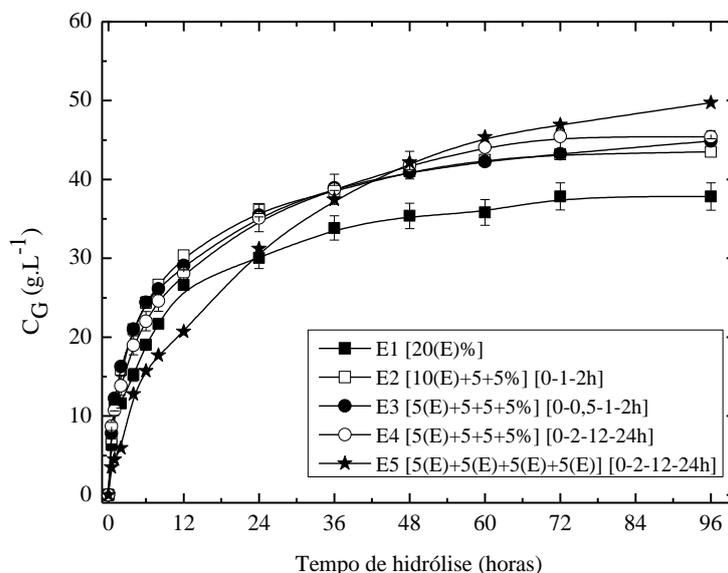
As medidas reológicas foram realizadas conforme a metodologia descrita no item 4.2.6.3. Entretanto, foi utilizado apenas o *spindle* (SC4-31) indicado para a faixa de viscosidade que a suspensão de bagaço explodido de cana-de-açúcar se encontrava.

## 5.3 Resultados e discussões

### 5.3.1 Quantificação de glicose

A Figura 5.2 apresenta os valores das concentrações de glicose ( $C_G$ ) dos ensaios de hidrólise em batelada e das diferentes estratégias de alimentação em batelada alimentada.

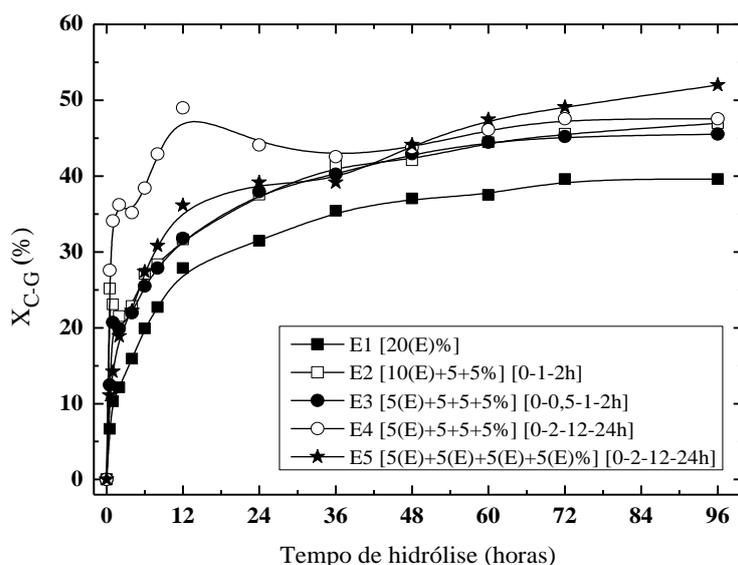
Figura 5.2 – Concentração de glicose ( $C_G$ ) ao longo da hidrólise enzimática.



Em 96h de hidrólise as concentrações de glicose ( $C_G$ ) das estratégias avaliadas foram as seguintes: 37,8  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (E1); 43,5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (E2); 44,8  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (E3); 45,4  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (E4) e; 49,7  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (E5).

A Figura 5.3 apresenta os valores da conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) para as diferentes estratégias. A conversão foi calculada baseada na Equação 4.9.

Figura 5.3 - Conversão de celulose ( $X_{C-G}$ ) em glicose ao longo da hidrólise enzimática.



A Tabela 5.2 mostra a concentração de glicose obtida em pontos pré-determinados durante a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar.

Tabela 5.2 – Concentração de glicose ( $g \cdot L^{-1}$ ) analisada em tempos específicos da hidrólise

Estratégia	0,5h	1h	2h	4h	12h	24h	48h	96h
<b>E1</b>	6,3	11,4	11,6	15,2	26,6	30,0	35,4	39,6
<b>E2</b>	7,1	11,0	15,8	21,0	30,3	36,2	41,0	45,5
<b>E3</b>	7,9	11,3	15,3	21,0	29,1	35,9	40,9	46,9
<b>E4</b>	9,7	12,1	13,8	21,4	29,2	38,6	41,8	47,7
<b>E5</b>	3,5	4,5	5,9	12,7	20,8	31,2	42,2	52,1

**E1:**[20(E)%]; **E2:** [10(E)+5+5%][0-1-2h]; **E3:** [5(E)+5+5+5%][0-0,5-1-2h]; **E4:** [5(E)+5+5+5%][0-2-12-24h]; **E5:** [5(E)+5(E)+5(E)+5(E)%][0-2-12-24h]. A concentração final de sólidos, em todas as estratégias, foi 20%.

As estratégias E4 e E5 apresentaram os melhores resultados em termos de concentração de glicose comparadas com as estratégias em batelada e batelada alimentada. A concentração final de glicose para as estratégias em batelada alimentada E2, E3, E4 e E5 apresentou um aumento significativo de 15, 18, 20 e 31%, respectivamente, em comparação a batelada simples (E1).

Chen et al. (2007) no estudo da hidrólise enzimática do sabugo de milho pré-tratado com 1% de  $H_2SO_4$  e Zhao et al. (2013) no processo de hidrólise enzimática de

bagaço de cana pré-tratado Formiline, encontraram um aumento de aproximadamente 17% e 15%, respectivamente, operado em batelada simples em relação ao processo de batelada alimentada. Diferentemente destes trabalhos citados anteriormente, os resultados de Rosgaard et al. (2007), no estudo da hidrólise enzimática da palha de cevada, mostraram que a condição com uma concentração constante de 15% foi a melhor estratégia, obtendo uma concentração de glicose de 78 g/L após 60 horas de reação. Estes autores justificaram que a estratégia em batelada alimentada obteve uma concentração final de glicose menor que o experimento em batelada simples, ocasionada pela diluição da enzima após a alimentação de mais substrato. No entanto, quando avaliaram as estratégias alimentando substrato e enzima simultaneamente, verificaram que essa condição foi eficaz para minimizar os efeitos da diluição da enzima.

A estratégia E4, em 4 horas de reação, continha apenas a metade da carga de sólidos (e a mesma carga de enzima) das estratégias E2 e E3 e mesmo assim obteve uma concentração de glicose um pouco acima das demais. Isto demonstra que um intervalo maior de alimentação promoveu uma mistura mais eficiente e também facilitou a ação das enzimas sobre o substrato e resultando em um aumento na conversão de celulose em glicose.

As estratégias E2, E3, e E4, obtiveram velocidades de reação iniciais mais elevadas, em comparação com as estratégias E1 e E5, onde a concentração de enzima era constante ao longo do experimento. Em 24 horas de hidrólise as estratégias avaliadas atingiram conversões de 31% (E1) 38% (E2), 38% (E3), 44% (E4) e 39% (E5). No entanto, após este tempo, a velocidade de reação destas estratégias reduziu significativamente, obtendo em 96 horas de reação, 39,6% (E1), 45,5% (E2), 46,9% (E3), 47,7% (E4) e 52,1%(E5).

Resultados semelhantes foram relatados por Du et al. (2014) onde mostraram que a conversão de celulose em glicose diminuiu significativamente com o aumento da concentração de sólidos. Este resultado pode estar relacionado com a limitação de sólidos no processo, devido à alta carga inicial de bagaço, provocando com isso problemas de mistura e conseqüentemente uma baixa transferência de calor e massa no meio reacional (RUDOLF et al., 2005 e WANDERLEY et al., 2013).

Esta queda de rendimento durante a hidrólise enzimática em regime de batelada alimentada também foi constatada em diversos outros estudos. Segundo Rabelo (2010)

e Puri et al. (2013) isto ocorre devido à inibição da enzima causada pela adsorção desta à lignina. Lee e Fan (1982) e Hodge et al. (2009) relacionaram esta queda de rendimento com a formação dos produtos (celobiose e glicose) e consequente inibição das enzimas durante a hidrólise. Manazares et al. (2011) e Puri et al. (2013) relacionaram a queda de rendimento da hidrólise com a baixa transferência de massa provocada pelo aumento da carga de sólidos. Cavalcanti-Montano et al. (2013) atribuíram a diminuição da velocidade de reação com os efeitos de diluição provocados pela alimentação de substrato. Em outros estudos, Ximenes et al. (2010), Ximenes et al. (2011) e Kim et al. (2011) verificaram que a redução no rendimento está relacionada com a formação de inibidores solúveis/desativadores de enzimas celulase causadas por altas concentrações de sólidos.

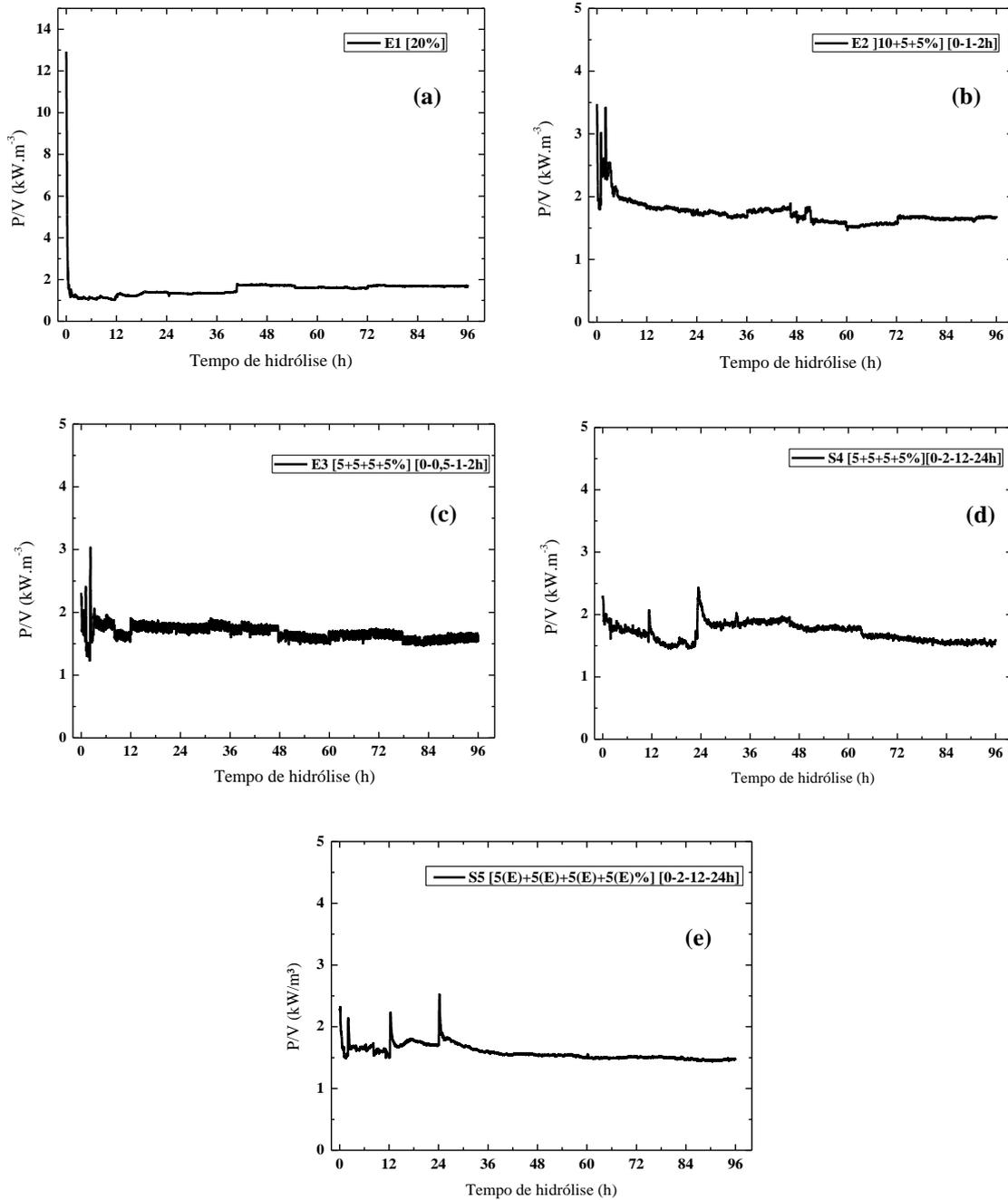
Associada a um maior intervalo de alimentação do bagaço, a estratégia E5, avaliou a adição de enzima simultaneamente ao substrato, o que resultou em um aumento na conversão de celulose de aproximadamente 31%, em comparação com a estratégia E1 (batelada simples), após 96 h de reação. Nesta estratégia, houve também uma queda no rendimento da hidrólise, embora isto só foi observado após 72 h de reação, ao contrário das outras estratégias avaliadas. Conforme relatado por Rosgaard et al. (2007) a adição simultânea de bagaço e do complexo enzimático anula o efeito de diluição sofrido pelas enzimas. Cui et al. (2014) também observaram que a adição de enzima e substrato ao longo da hidrólise melhorou a viabilidade do processo. A estratégia E5 atenuou os efeitos causados pelos inibidores/desativadores solúveis (incluindo compostos fenólicos e xilo-oligossacáridios) presentes no substrato pré-tratado (XIMENES et al., 2011, KIM et al., 2015 e KO et al., 2015).

Além de se obter uma maior concentração de glicose no processo de hidrólise enzimática em regime de batelada alimentada, a grande vantagem deste regime de operação é a manutenção da baixa viscosidade aparente do meio de reacional e, consequentemente, um menor consumo de energia durante toda a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar.

### **5.3.2 Consumo de potência**

Os perfis do torque e, consequentemente, o consumo de potência por unidade de volume (P/V) das estratégias de alimentação avaliadas são apresentadas na Figura 5.4.

Figura 5.4 - Consumo de potência por unidade de volume (P/V) ao longo da hidrólise. (a) estratégia E1; (b) estratégia E2; (c) estratégia E3; (d) estratégia E4; (e) estratégia E5.



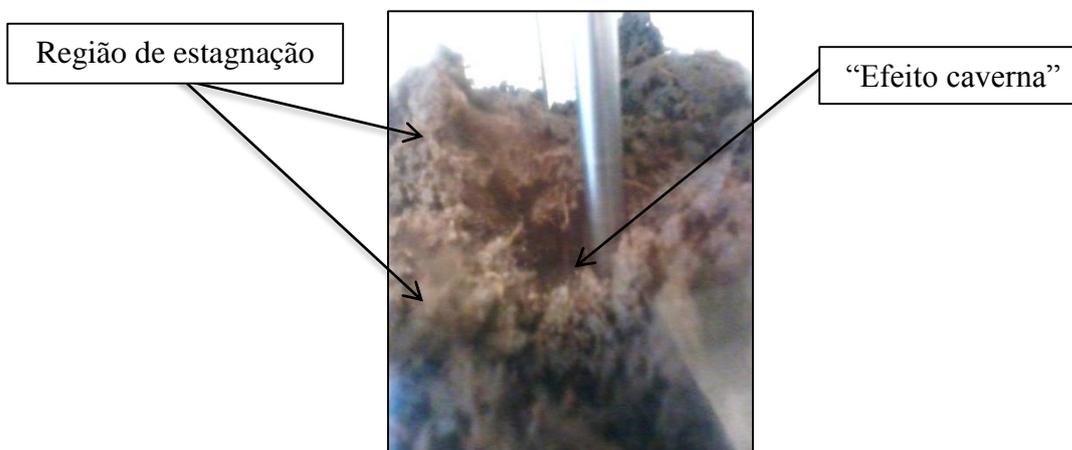
A energia específica ( $\bar{E}_{ESP}$ ) consumida que leva em consideração o consumo de potência (P) por unidade de volume (V) durante toda a etapa de hidrólise (96 horas) foi estimada através da Equação 5.1.

$$\bar{E}_{ESP} = \int_0^{96h} \frac{P}{V}(t) \cdot dt \quad \text{Equação 5.1}$$

A energia consumida específica ( $\bar{E}_{ESP}$ ) para as estratégias de alimentação avaliadas foram as seguintes: 160,02 kWh·m<sup>-3</sup> (E1); 166,45 kWh·m<sup>-3</sup> (E2); 160,83 kWh·m<sup>-3</sup> (E3); 161,43 (E4); 144,81 (E5).

Os resultados apresentados na Figura 5.4 (a) mostram uma acentuada redução no consumo de potência nos primeiros 30 minutos de reação na estratégia E1. Porém, devido à alta concentração de sólidos desde o início da reação, ocorreu o chamado “efeito caverna” (Figura 5.5). Esta estratégia teve um alto consumo de energia nos primeiros minutos de reação. No entanto, em 30 minutos de reação, o consumo de potência teve uma redução abrupta de aproximadamente 600%, provocado pelo “efeito caverna”. Quando ocorre este fenômeno, o meio reacional não é homogêneo e o consumo de energia é medido apenas em relação a uma pequena porção do meio próximo dos impelidores, sendo que o meio reacional, localizado próximo à parede do reator, permanece estagnado (causado pelo "efeito caverna"). Somente após 40 horas de reação, o hidrolisado torna-se totalmente homogêneo, causando um aumento no consumo de potência. (Figura 5.4 (a)).

Figura 5.5 – Fotografia do interior do reator nos primeiros minutos de hidrólise (E1=20%).



Fonte: Acervo Pessoal (2015)

No caso das estratégias E2 e E3, verificou-se que a estratégia com menor concentração inicial de sólidos (E3) favoreceu a mistura da suspensão e promovendo assim uma ação mais eficaz das enzimas. Em termos de consumo de potência, a estratégia E3 também foi superior à estratégia E2, com um consumo de energia de aproximadamente 5% menor, devido à baixa viscosidade da suspensão durante toda a reação.

A avaliação do efeito da adição de bagaço em diferentes intervalos (estratégias E3 e E4) mostrou um consumo de energia semelhante destas estratégias (Figura 5.4 (c) e (d)). Isto pode ser explicado pelo fato de que, em ambas as estratégias, as enzimas foram adicionadas no início da reação. Na estratégia E3, bagaço de cana foi adicionado durante as primeiras duas horas de reação, enquanto que na estratégia E4, a concentração final de bagaço só foi atingida após 24h de hidrólise. Como mostrado na Figura 5.4 (c), para a estratégia E3 seria necessário um motor mais potente em comparação com a estratégia E4, a fim de fornecer a potência necessária para o processo durante as primeiras horas de hidrólise, o que, conseqüentemente, aumentaria o custo de capital do processo.

Utilizando a estratégia E5, minimizou-se os efeitos dos desativadores/inibidores, em comparação com as outras estratégias avaliadas neste trabalho. Na estratégia E5, a enzima e o bagaço foram adicionados durante o experimento, resultando em uma baixa viscosidade aparente. Esta estratégia mostrou promissora, uma vez que resultou em concentração de glicose final mais elevada (aumento de 31%), juntamente com um menor consumo de energia (aproximadamente 11% menor) que os resultados obtidos na estratégia em batelada simples (E1).

A Tabela 5.3 resume os resultados obtidos para as diferentes estratégias em termos da concentração de glicose ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ), o consumo específico de energia ( $\text{kWh}\cdot\text{m}^{-3}$ ), e da eficiência energética ( $\text{kg}_{\text{glicose}}\cdot\text{kWh}^{-1}$ ).

Tabela 5.3 - Dados da energia específica consumida e da eficiência energética das configurações.

<b>Estratégias</b>	<b>Glicose (<math>\text{kg}_{\text{glicose}}\cdot\text{m}^{-3}</math>)</b>	<b><math>\bar{E}_{\text{ESP}}</math> (<math>\text{kWh}\cdot\text{m}^{-3}</math>)</b>	<b>Eficiência Energética (<math>\text{kg}_{\text{glicose}}\cdot\text{kWh}^{-1}</math>)</b>
<b>E1</b>	37,88	160,02	0,23
<b>E2</b>	43,50	166,45	0,26
<b>E3</b>	44,88	160,83	0,27
<b>E4</b>	45,40	161,43	0,28
<b>E5</b>	49,74	144,81	0,35

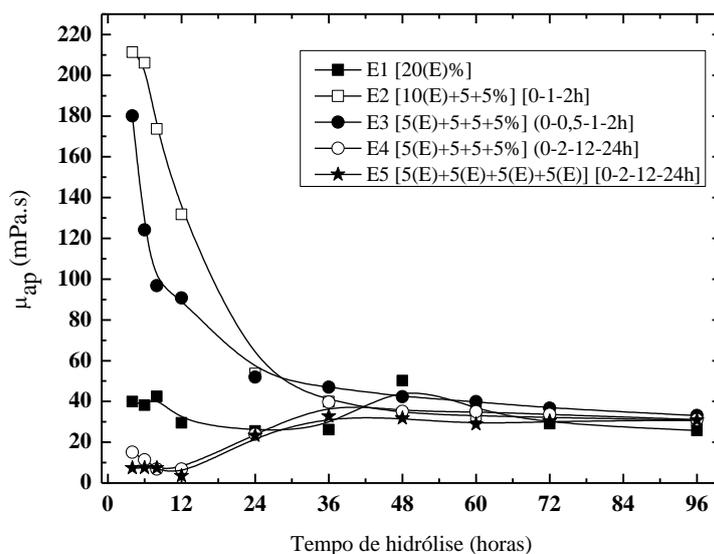
**E1:** 20%; **E2:** 10+5+5% (0-1-2h); **E3:** 5+5+5+5%(0-0,5-1-2h); **E4:** 5+5+5+5% (0-2-12-24h); **E5:** 5(E)+5(E)+5(E)+5(E)(0-2-12-24h).

A estratégia E5 apresentou os melhores resultados em termos de concentração de glicose, consumo específico de energia, e consequentemente, uma melhor eficiência energética em comparação com demais condições de alimentação. A eficiência energética obtida na estratégia E5 foi de aproximadamente  $0,35 \text{ kg}_{\text{glicose}} \cdot \text{kWh}^{-1}$ , resultado este que foi aproximadamente 52% maior do que o obtido na estratégia em batelada simples (E1).

### 5.3.3 Análise reológica

As medidas reológicas foram possíveis somente após 4 horas de reação devido à alta viscosidade que o meio se encontrava. Com isso, as análises reológicas foram realizadas nos tempos de 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 96 horas. A Figura 5.6 mostra o comportamento reológico do meio reacional ao longo da reação. A viscosidade aparente ( $\mu_{\text{ap}}$ ) foi obtida por meio das Equações 2.8 e 2.9.

Figura 5.6 - Viscosidade aparente ( $\mu_{\text{ap}}$ ) em função do tempo de hidrólise.



A viscosidade aparente ( $\mu_{\text{ap}}$ ) na estratégia E1 obteve valores de viscosidade entre 29,1 a 50,2 mPa.s. Na estratégia E2 a viscosidade aparente variou de 30,8 a 211,3 mPa.s, na estratégia de alimentação E3 a viscosidade variou de 180,1 a 33,1 mPa.s, na estratégia E4 a viscosidade aparente variou de 15,1 a 31,2 mPa.s, e a viscosidade aparente na estratégia E5 variou de 7,4 a 30,9 mPa.s.

Nota-se na Figura 5.6, que a estratégia E1 apresentou uma viscosidade aparente inicial menor que as E2 e E3, devido à ocorrência do “efeito caverna”. Porém, após 40 horas de reação, o meio reacional tornou-se homogêneo, fazendo com que a viscosidade aparente no

próximo ponto analisado (48 h) tivesse um aumento significativo. Entretanto, nos pontos analisados de 60 e 72 h a viscosidade aparente do meio reacional apresentou uma redução e após isto, manteve-se constante até o final da hidrólise. As estratégias E2 e E3 tiveram uma queda bastante acentuada nas primeiras 24 horas de reação, após esse tempo os valores de viscosidade permaneceram praticamente constantes até o final da hidrólise.

As estratégias E4 e E5 apresentaram os menores valores de viscosidade aparente porque no primeiro ponto possível de medição (4 h), ambas as estratégias continham uma concentração menor (10%) que as demais estratégias. Após 12 horas de reação, E4 e E5 apresentaram um aumento na viscosidade aparente. No entanto, ambas estratégias obtiveram uma viscosidade abaixo das demais. Isso demonstra que o tempo mais prolongado de adição de apenas substrato ou de substrato e enzima simultaneamente, tem um impacto importante na viscosidade aparente da suspensão de bagaço de cana-de-açúcar. Como era esperado, em 96 h de reação, todas as estratégias avaliadas apresentaram valores de viscosidade aparente bastante próximos, em torno de 30 mPa·s.

No estudo de Rosgaard et al. (2007) a viscosidade aparente, em todas as hidrólises, diminuiu nas primeiras horas de reação; porém nas hidrólises em batelada alimentada ocorreu uma diminuição da viscosidade mais rapidamente em comparação com as hidrólises com carga de sólidos constante. Esse fato pode ser explicado devido às maiores razões de enzima/substrato empregadas durante as reações de batelada alimentada. A viscosidade aparente da palha de cevada, em todas as estratégias avaliadas pelos autores, ficou abaixo de 100 mPa·s após 72 horas de reação.

Liu et al. (2015) também constataram que o tempo de alimentação de substrato e de enzimas foi um fator significativo na determinação da viscosidade da suspensão do bagaço de cana-de-açúcar submetido ao pré-tratamento alcalino. Com um tempo mais prolongado de adição de substrato e de enzimas ajudou na manutenção de uma baixa viscosidade do meio reacional.

## **5.4 Conclusões**

Os resultados apresentados mostraram que a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar utilizando o modo de operação em batelada alimentada é bastante promissora. A eficiência energética de estratégia onde se adicionou enzima e bagaço simultaneamente ao longo da hidrólise (E5) foi de aproximadamente 52% maior, em comparação com uma estratégia operando em regime de batelada simples (E1).

## **CAPÍTULO 6 – AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA ENERGÉTICA NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS**

Este capítulo apresenta os resultados obtidos em um estudo comparativo entre diferentes biomassas submetidas a dois tipos de pré-tratamento. Avaliaram-se estes processos em termos da eficiência energética, bem como do comportamento reológico das suspensões ao longo da reação.

### **6.1 Introdução**

Com a necessidade iminente da substituição de combustíveis de origem fóssil devido à poluição causada pela queima destes, os biocombustíveis provenientes de materiais lignocelulósicos surgem como alternativa promissora para ser a principal alternativa à gasolina. O etanol é um dos mais importantes biocombustíveis renováveis e seu uso contribui diretamente para a redução do impacto ambiental causado pelos combustíveis não renováveis (PITARELLO, 2013)

O bagaço e a palha de cana-de-açúcar estão entre as biomassas mais utilizadas nos estudos da produção de etanol de segunda geração (E2G) por possuírem grande potencial energético. Porém, a produção industrial deste tipo de biocombustíveis tem sofrido resistência em relação ao custo de sua produção, principalmente devido às etapas de pré-tratamento e hidrólise.

Há inúmeros estudos na literatura que avaliaram o bagaço e palha de cana-de-açúcar nas etapas de pré-tratamento e hidrólise do processo de produção do E2G, como estudos de Oliveira et al. (2013), Gao et al. (2014), Liu et al. (2015), Rocha et al. (2015) e Souza et al. (2015).

Neste capítulo foram avaliadas hidrólise enzimática do bagaço e palha de cana-de-açúcar em termos da eficiência da energética do processo (massa de glicose obtida pela energia total consumida), bem como as características reológicas das suspensões do destas biomassas ao longo da reação.

### **6.2 Materiais e métodos**

#### **6.2.1 Materiais**

As biomassas utilizadas neste estudo foram:

- Bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, doado pela Usina Ipiranga – Descalvado, SP;

- Palha de cana-de-açúcar *in natura*, doada pela Usina Ipiranga – Descalvado, SP;
- Bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor, doado pelo Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) - Piracicaba, SP.

Avaliou-se as seguintes condições: bagaço de cana-de-açúcar submetido a dois tipos de pré-tratamento: explosão à vapor e hidrotérmico; e palha de cana-de-açúcar submetida ao pré-tratamento hidrotérmico.

Utilizou-se o complexo enzimático Cellic CTec 2, descrito no item 3.1.

## **6.2.2 Pré-tratamento**

### **6.2.2.1 Explosão a vapor**

Conforme descrito, o bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor foi doado pelo Centro de Tecnologia Canavieira (CTC). As condições operacionais utilizadas neste processo foram: pressão de  $17 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ , temperatura de  $205^\circ\text{C}$  durante 20 minutos.

### **6.2.2.2 Hidrotérmico**

O bagaço e a palha de cana-de-açúcar *in natura*, descritos no item 6.2.1, foram submetidos ao processo de pré-tratamento hidrotérmico. Este pré-tratamento hidrotérmico consistiu em misturar os materiais lignocelulósicos com água na proporção de 1:10 (m/m) em um reator de aço inoxidável (Parr Instruments Company, modelo 4584), com controle de temperatura e agitação (Figura 6.1). Os materiais foram previamente moídos em um micro moinho de facas (Willye, modelo SP - 30), obtendo assim, uma granulometria de 2 mm. As condições de operação deste processo foram temperatura de  $195^\circ\text{C}$  durante 10 minutos, agitação constante de 200 rpm e pressão máxima de aproximadamente  $12 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ . No final deste processo, a fração sólida foi separada através de um filtro após filtração e lavado com água para remover a hemicelulose residual até atingir o pH neutro. A fração sólida foi armazenada no freezer para posterior utilização na caracterização química das biomassas e no processo de hidrólise enzimática.

Figura 6.1 - Reator Parr utilizado para o pré-tratamento hidrotérmico.



Fonte: Acervo pessoal (2016)

### 6.2.3 Hidrólise enzimática

Os experimentos de hidrólise enzimática foram realizados no reator de tanque agitado descrito no item 3.1 deste trabalho, em regime de batelada, com volume reacional de 3L. Avaliaram-se duas biomassas submetidas a diferentes pré-tratamentos: bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor (BCA EX), bagaço pré-tratado hidrotérmicamente (BCA HT) e palha de cana-de-açúcar pré-tratado hidrotérmicamente (PALHA HT). Em todos os experimentos foram realizados com uma concentração de sólidos de 10% ( $\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$ ), carga enzimática de  $10 \text{ FPU}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{biomassa}}$ , solução tampão citrato (50mM, pH 4,8) e com uma temperatura controlada de  $50,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por um período de 96 horas. A configuração de impelidores (EEDP – EEUP) e a frequência de agitação (470 rpm) utilizadas nesta etapa foram baseadas nos resultados apresentados no Capítulo 4 deste trabalho.

No decorrer da hidrólise, coletou-se aproximadamente 1 mL em tempos pré-determinados: 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 96 horas, para quantificação da concentração de glicose. As amostras foram centrifugadas (centrífuga Eppendorf, modelo 5810R) durante 7 minutos, com rotação de 10.000 rpm (12.857 rcf) a  $4^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, foram coletados 0,5 mL do sobrenadante e misturado em 0,1 mL de uma solução de NaOH (0,2N) para inativação das enzimas e armazenadas posteriormente a  $-18^{\circ}\text{C}$ , até a quantificação dos açúcares.

#### 6.2.3.1 Quantificação de glicose

A quantificação de glicose foi determinada conforme o item 4.2.6.1.

### 6.2.3.2 Consumo de potência

A estimativa do consumo de potência foi determinada conforme descrita no item 4.2.6.2.

### 6.2.3.3 Análise Reológica

As medidas reológicas foram realizadas conforme a metodologia descrita no item 4.2.6.3

## 6.3 Resultados e Discussões

### 6.3.1 Caracterização das biomassas

A composição do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor está descrita no item 4.3.2 (Tabela 4.1).

A Tabela 6.1 mostra a composição dos constituintes encontrados no bagaço de cana-de-açúcar após o processo de pré-tratamento hidrotérmico.

Tabela 6.1 – Caracterização química do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado hidrotérmicamente (195°C por 10 min).

<b>Componentes</b>	<b>(%)</b>
Celulose	61,20
Hemicelulose	5,90
Lignina/Cinzas	31,00
<b>Total</b>	<b>98,10</b>

Os resultados encontrados na caracterização do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado hidrotérmicamente estão próximos dos valores apresentados no estudo de Zhang et al. (2011) onde encontraram 68% de celulose e 28,10% de lignina e cinzas. Os autores relataram que a hemicelulose foi completamente removida.

Na Tabela 6.2 tem-se a composição dos constituintes encontrados na palha de cana-de-açúcar após o pré-tratamento hidrotérmico.

Tabela 6.2 - Caracterização química da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotérmicamente (195°C por 10 min).

Componentes	(%)
Celulose	57,05
Hemicelulose	5,80
Lignina/Cinzas	35,42
<b>Total</b>	<b>98,27</b>

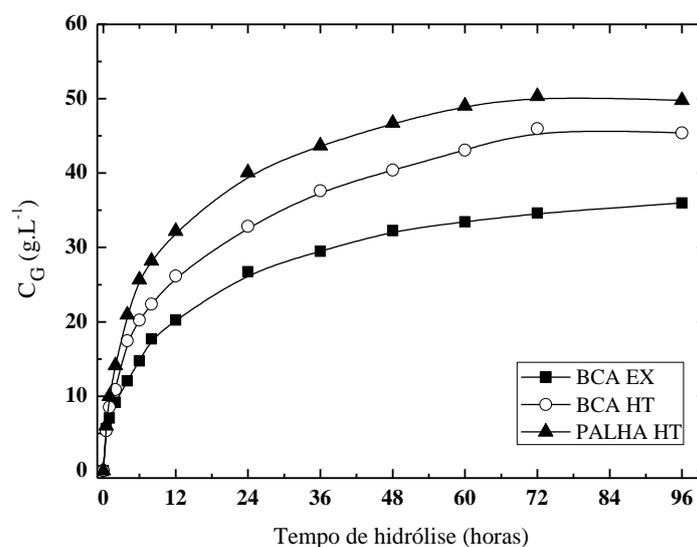
Os valores apresentados na Tabela 6.2, referente à caracterização da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotérmicamente estão próximos dos obtidos por Oliveira et al. (2014) onde encontraram 62,2% de celulose, 3,5% de hemicelulose e 34,8% de lignina e cinzas. Souza e colaboradores (2015) obtiveram 58,0% de celulose, 7,5% de hemicelulose e 33,0% de lignina e cinzas.

### 6.3.2 Hidrólise enzimática

#### 6.3.2.1 Quantificação de glicose

Para os experimentos de hidrólise com diferentes biomassas, a concentração de glicose obtida em função do tempo foi analisada. A Figura 6.2 mostra os perfis da concentração de glicose ao longo da hidrólise enzimática para todas as biomassas avaliadas.

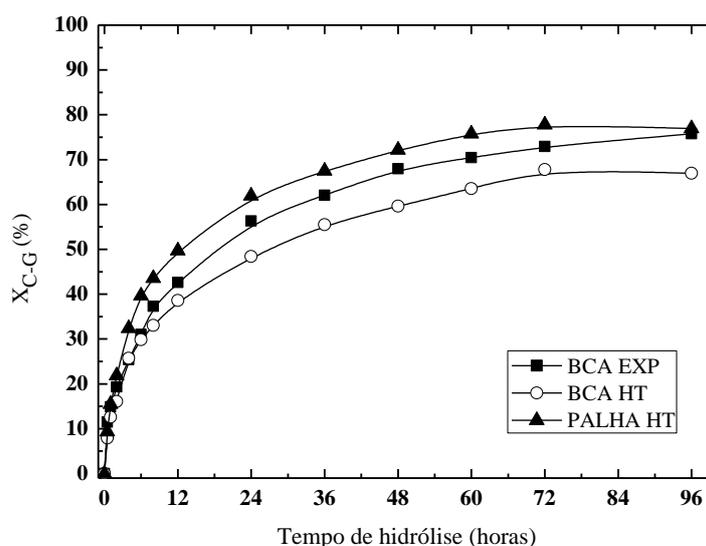
Figura 6.2 - Concentração de glicose ( $C_G$ ) ao longo da hidrólise enzimática das diferentes biomassas.



Em 96h de hidrólise as concentrações de glicose ( $C_G$ ) das diferentes biomassas foram as seguintes:  $35,9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  (BCA EX);  $45,4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  (BCA HT);  $49,8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  (PALHA HT).

A Figura 6.3 apresenta os valores da conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) para as diferentes biomassas estudadas. A conversão foi calculada com base na Equação 4.9.

Figura 6.3 – Conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) ao longo da hidrólise enzimática das diferentes biomassas



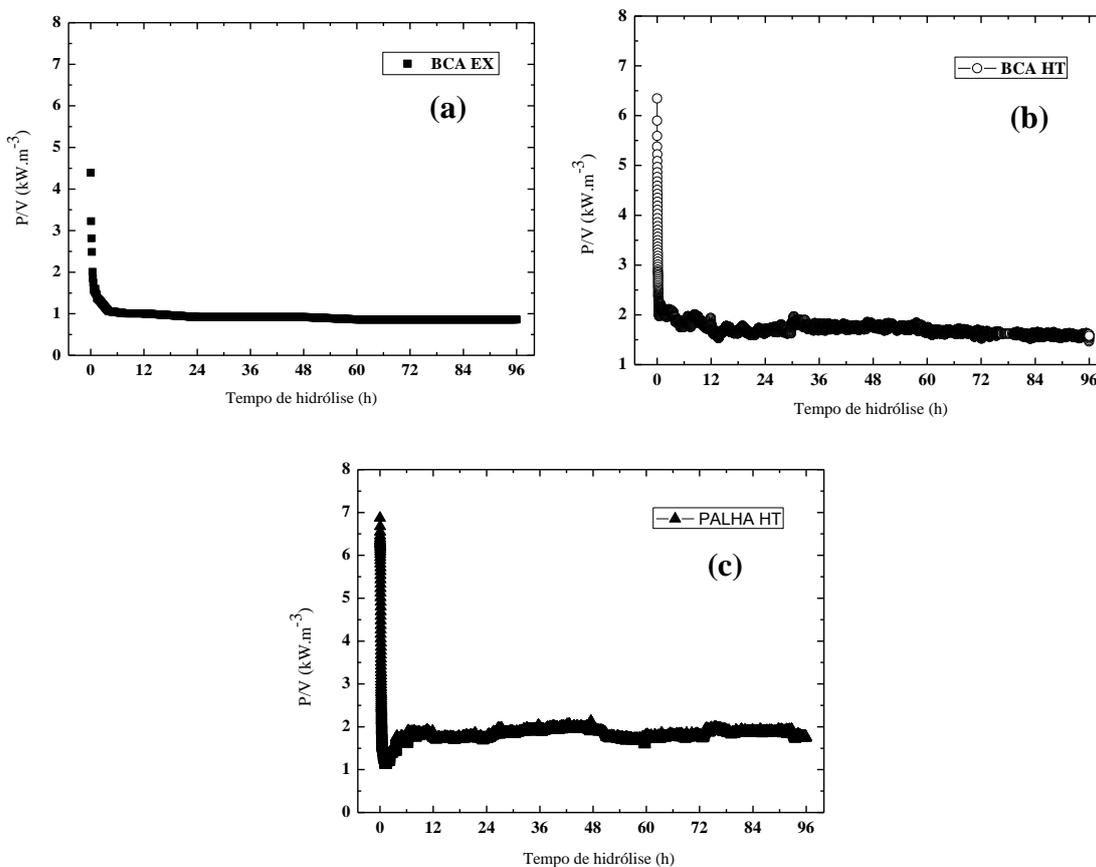
A conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) em 96 horas foi de 75,7% (BCA EX) 66,9% (BCA HT) e 76,1% (PALHA HT).

### 6.3.2.2 Consumo de potência

Na Figura 6.4 são apresentados os perfis do consumo de potência por unidade de volume ( $P/V$ ) das biomassas avaliadas ao longo dos experimentos.

A energia específica ( $\bar{E}_{ESP}$ ) consumida que leva em consideração o consumo de potência ( $P$ ) por unidade de volume ( $V$ ) durante toda a etapa de hidrólise (96 horas) foi estimada através da Equação 5.1 e os resultados foram:  $89,35 \text{ kWh}\cdot\text{m}^{-3}$  (BCA EX);  $164,88 \text{ kWh}\cdot\text{m}^{-3}$  (BCA HT);  $176,16 \text{ kWh}\cdot\text{m}^{-3}$  (PALHA HT).

Figura 6.4 - Consumo de potência por unidade de volume (P/V) ao longo da hidrólise. (a) bagaço de cana explodido; (b) bagaço de cana hidrotérmico; (c) Palha de cana hidrotérmica.



No experimento de bagaço explodido pré-tratado por explosão a vapor, a mistura apresentou-se homogênea desde o início da reação. Obteve-se uma queda acentuada nas primeiras duas horas de hidrólise e após isto o consumo de potência manteve praticamente constante. Diferentemente, na hidrólise enzimática com bagaço pré-tratado hidrotérmicamente ocorreu o “efeito caverna”, gerando com isso regiões de estagnação junto a parede do reator. Esse fenômeno ocorreu durante as primeiras quatro horas de reação. Este mesmo fenômeno foi verificado também no estudo da hidrólise com palha de cana-de-açúcar submetida ao pré-tratamento hidrotérmico, onde o “efeito caverna” persistiu durante as sete horas iniciais de reação. Este fato pode ser visualizado na Figura 6.4(c), onde se observa que após esse tempo, o meio reacional tornou-se homogêneo e, conseqüentemente, o consumo de potência aumentou.

A Tabela 6.3 resume os resultados obtidos para as diferentes hidrólises de biomassas em termos da concentração de glicose ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ), o consumo específico de energia ( $\text{kWh}\cdot\text{m}^{-3}$ ) e da eficiência energética ( $\text{kg}_{\text{glicose}}\cdot\text{kWh}^{-1}$ ).

Tabela 6.3 – Dados da concentração de glicose, da energia específica consumida e da eficiência energética das configurações. (10% de sólidos, m/v; 470 rpm; 10 FPU·g<sub>substrato</sub><sup>-1</sup>; 96 horas).

<b>Biomassa/Pré- tratamento</b>	<b>Glicose (kg<sub>glicose</sub>·m<sup>-3</sup>)</b>	<b><math>\bar{E}_{ESP}</math> (kWh·m<sup>-3</sup>)</b>	<b>Eficiência Energética (kg<sub>glicose</sub>·kWh<sup>-1</sup>)</b>
Bagaço explodido a vapor	35,96	89,35	0,402
Bagaço hidrotérmico	45,40	164,88	0,275
Palha hidrotérmico	50,34	176,16	0,285

Diante dos resultados apresentados na Tabela 6.3, constatou-se que a hidrólise enzimática com palha de cana-de-açúcar obteve uma maior concentração de glicose, sendo 40 e 11%, maior que a concentração de glicose nos experimentos com bagaço explodido e bagaço hidrotérmico, respectivamente. Por outro lado, obteve-se também maior consumo de energia comparado com estudos das demais biomassas, sendo 97% maior que a hidrólise com bagaço explodido e 7% superior que o experimento com bagaço hidrotérmico. Este maior consumo de energia constatado neste estudo com as biomassas submetidas ao processo hidrotérmico pode estar relacionado com uma maior granulometria das fibras que estas matérias lignocelulósicas apresentaram frente ao bagaço pré-tratado por explosão a vapor.

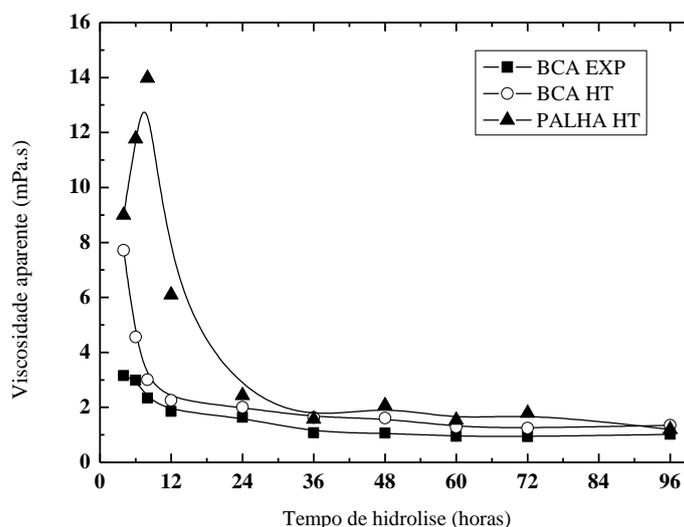
Dasari e Berson (2007) relataram que o tamanho das partículas iniciais da biomassa utilizada tem um impacto significativo sobre a conversão de celulose em glicose e também na viscosidade da suspensão. Portanto, uma redução do tamanho das partículas pode ser uma forma de diminuir a viscosidade da suspensão e assim reduzir os custos de funcionamento. Pode-se também aumentar a concentração de sólidos na reação e conseqüentemente aumentar a conversão de celulose em glicose.

Ao analisar a eficiência energética dos processos, a qual leva em consideração a concentração de glicose pelo consumo de energia gasto no processo, constatou-se que a hidrólise enzimática com bagaço explodido foi 46% e 41% maior que o processo com bagaço e palha hidrotérmico, respectivamente.

### 6.3.2.3 Análise reológica

As análises reológicas foram realizadas nos tempos de 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 96 horas. A Figura 6.5 mostra o comportamento reológico da suspensão do bagaço ao longo da reação. A viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ) foi obtida através das Equações 8 e 9.

Figura 6.5 - Viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ) em função do tempo de hidrólise.



A viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ) das suspensões avaliadas variou de 3,15 a 1,02 mPa.s na hidrólise com BCA EXP; 7,71 a 1,34 mPa.s na reação com BCA HT e 13,97 a 1,20 mPa.s utilizando PALHA HT.

A Figura 6.5 mostra que a viscosidade aparente da hidrólise utilizando bagaço explodido (BCA EX) apresentou uma queda nas 24 horas de reação e após este período manteve-se praticamente constante até o final da reação. Na hidrólise enzimática com bagaço hidrotérmico apresentou uma queda bastante acentuada nas primeiras 12 h de reação e valores obtidos nos próximos pontos analisados foram constantes. No entanto, a hidrólise enzimática com palha de cana-de-açúcar hidrotérmico apresentou um comportamento diferente das demais biomassas. Este fato ocorreu devido ao “efeito caverna” que durou as primeiras sete horas da reação, o que justifica os valores menores ao analisar os pontos de 4 e 6 h onde o meio encontrava-se bastante heterogêneo. Após sete horas de hidrólise, o meio ficou completamente homogêneo e com isso obteve-se uma viscosidade aparente maior no próximo ponto analisado (8 h). Após isto, houve uma queda bastante acentuada até 24 h de hidrólise e após este tempo, a viscosidade aparente do meio reacional permaneceu praticamente estável.

Dasari e Berson (2007) relataram que o tamanho das partículas iniciais da biomassa, além de ter um impacto significativo sobre a conversão de celulose em glicose e também na viscosidade da suspensão. Com isso, uma redução do tamanho das partículas pode ser uma forma de diminuir a viscosidade da suspensão e assim reduzir os custos do processo e também aumentar a concentração de sólidos na reação. Viamajala et al. (2009) estudaram a hidrólise de palha de milho e relataram que a viscosidade elevada encontrada pode ter sido causada pelas maiores interações entre as fibras longas devido à fricção ou entrelaçamento destas fibras.

#### **6.4 Conclusões**

A eficiência energética obtida na hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor mostrou-se 41 e 46 % superior aos processos com hidrólise da palha e bagaço, ambos pré-tratados hidrotermicamente, respectivamente.

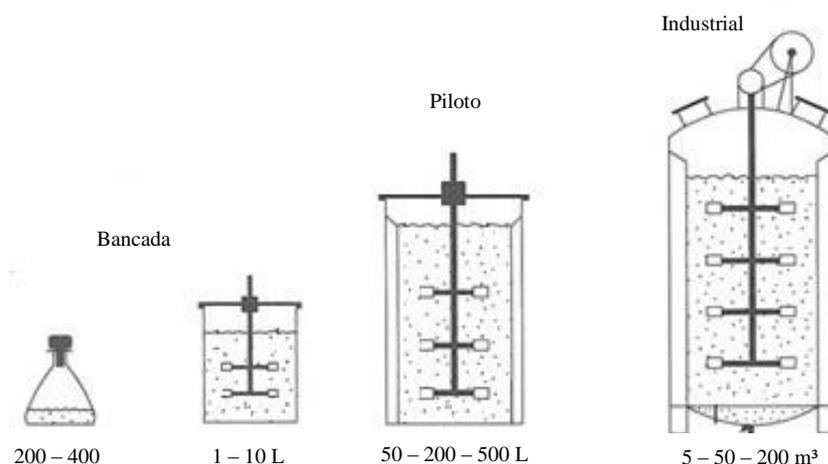
## CAPÍTULO 7 - PROTOCOLO DE AUMENTO DE ESCALA

Este capítulo propõe-se a descrever um protocolo para a realização de um estudo para aumento de escala do processo de hidrólise enzimática de biomassas. Partindo de resultados obtidos em um reator de escala de bancada (dados obtidos no capítulo 4, referente a configuração EEDP-EEUP), estimaram-se alguns parâmetros em um reator em escala industrial, empregando um fator de aumento de escala de 1000. Dentre os critérios de aumento de escala citados na literatura, foram escolhidos dois que mais se enquadram com o objetivo deste estudo, são eles: o tempo de mistura ( $t_m$ ) e a potência por unidade de volume ( $P/V$ ).

### 7.1 Introdução

No desenvolvimento de processos químicos e bioquímicos, quando são obtidos resultados interessantes de produtividade e rendimento, bem como condições econômicas adequadas do produto de interesse em escala laboratorial, há necessidade de ampliar a escala de trabalho até uma escala industrial visando o lado econômico. Essa variação de escala, neste sentido, é conhecida como aumento de escala ou *scale-up* (SCHMIDELL e BADINO et al., 2001). A Figura 7.1 mostra a sequência de escalas, podendo haver escalas intermediárias entre as escalas piloto e industrial.

Figura 7.1 - Escalas de trabalho no desenvolvimento de processos.



Fonte: Adaptado de Schmidell e Badino (2001).

Tem-se a necessidade de estabelecer critérios para prever os resultados do processo em uma escala maior, pois não é possível manter todas as relações de fluxo e cisalhamento de escala menor para a maior. Em cada caso é necessário verificar qual é o parâmetro de maior interesse a ser observado (JOAQUIM JR et al., 2007). Os principais parâmetros são: geométricos, dinâmicos e cinemáticos, sendo a relação geométrica a mais usada no estudo de aumento de escala.

Diversas correlações foram testadas para a elaboração de critérios de aumento de escala, onde o parâmetro obtido na escala menor deve ser mantido na escala maior. Dentre estes critérios mais utilizados para biorreatores convencionais estão: Potência por unidade de volume (P/V) e tempo de mistura ( $t_m$ ).

## 7.2 Materiais e métodos

O procedimento para ampliação de escala baseia-se em, mantendo as semelhanças geométricas entre a escala menor e a maior, selecionar um dos critérios de ampliação e com isso encontrar as novas condições de operação na escala escolhida (SCHMIDELL e BADINO, 2001).

Segundo Cremasco et al. (2012) as condições que tiveram um desempenho satisfatório na escala de bancada devem ser mantidas na escala industrial.

### 7.2.1 Constância do tempo de mistura ( $t_m$ )

Norwood e Metzner (1960) relacionaram o fator tempo de mistura ( $\Phi$ ) com o número de Reynolds (Re) conforme descrita na Equação 4.6.

Para valores de  $Re > 10^5$  e sabendo que  $H_L$  e  $D_T$  são proporcionais a  $D_i$ , tem-se que:

$$t_m \propto \frac{D_i^{1/6}}{N^{2/3}} \quad \text{Equação 7.1}$$

Mantendo o tempo de mistura constante, tem-se que:

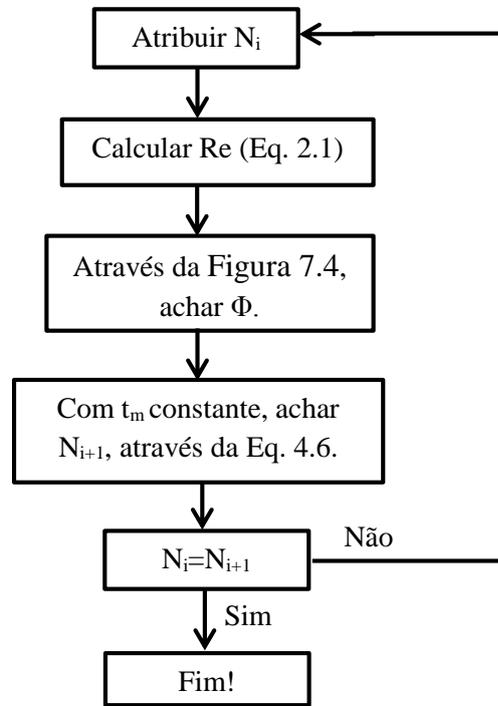
$$t_{m1} = t_{m2} \quad \text{Equação 7.2}$$

Onde: índice 1 refere-se a escala de bancada (0,003m<sup>3</sup>), deste trabalho, e o índice 2 referente a maior escala (3m<sup>3</sup>).

$$N_2 = N_1 \cdot \left(\frac{D_{i2}}{D_{i1}}\right)^{1/4} \quad \text{Equação 7.3}$$

Outra maneira de se obter a rotação na nova escala ( $N_2$ ) é de forma iterativa, conforme o memorial de cálculo descrito na Figura 7.2.

Figura 7.2 – Memorial de cálculo para a obtenção da rotação na nova escala ( $N_2$ ).



### 7.2.2 Constância do consumo de potência por unidade de volume (P/V)

Este critério é um dos mais utilizados em estudos de ampliação de escala de reatores. A seguir, baseado em Schmidell e Badino (2001), tem-se o equacionamento para a determinação da rotação a ser utilizada em um provável aumento de escala, mantendo o consumo de potência por unidade de volume (P/V) constante.

Nos regimes laminar ( $Re < 10$ ) e de transição ( $Re < 10^4$ ), tem-se que:

$$N_P = f\left(\frac{1}{Re}\right) \quad \text{Equação 7.4}$$

Logo:

$$\frac{P}{N^3 \cdot D_1^5 \cdot \rho} \propto \frac{\mu}{\rho \cdot N \cdot D_1^2} \quad \text{Equação 7.5}$$

As propriedades físicas: massa específica ( $\rho$ ) e viscosidade ( $\mu$ ) são constantes no aumento de escala, com isso:

$$P \propto \frac{N^3 \cdot D_1^5}{N \cdot D_1^2} \quad \text{Equação 7.6}$$

No regime turbulento ( $Re > 10^4$ ),  $N_p$  é constante (Nagata, 1975; Bailey e Ollis, 1986).

Logo:

$$\frac{P}{N^3 \cdot D_i^5 \cdot \rho} = \text{constante} \quad \text{Equação 7.7}$$

Portanto:

$$P \propto N^3 \cdot D_i^5 \quad \text{Equação 7.8}$$

Sendo o volume do reator (V):

$$V = \pi \cdot \frac{D_t^2}{4} \cdot H_L \quad \text{Equação 7.9}$$

E mantendo a mesma semelhança geométrica apresentada no item 3.1, logo;

$$D_t \propto D_i \quad \text{e} \quad H_L \propto D_i$$

Logo,

$$V \propto D_i^3 \quad \text{Equação 7.10}$$

Fazendo a divisão das Equações 7.6 e 7.8 pela Equação 7.10, tem-se que:

No regime laminar:

$$\frac{P}{V} \propto N^2 \quad \text{Equação 7.11}$$

No regime turbulento:

$$\frac{P}{V} \propto N^3 \cdot D_i^2 \quad \text{Equação 7.12}$$

Por isso, mantendo o critério de aumento de escala, potência por unidade de volume ( $P/V$ ) constante, no regime turbulento, tem-se que:

$$\left(\frac{P}{V}\right)_1 = \left(\frac{P}{V}\right)_2 \quad \text{Equação 7.13}$$

E, portanto, a rotação na nova escala será determinada através da Equação 7.14.

$$N_1^3 \cdot D_{i1}^2 = N_2^3 \cdot D_{i2}^2 \quad \therefore N_2 = N_1 \cdot \left(\frac{D_{i1}}{D_{i2}}\right)^{2/3} \quad \text{Equação 7.14}$$

Para se determinar o tempo de mistura da nova escala ( $t_{m2}$ ) utilizando este critério e levando em consideração as relações geométricas, bem como a nova rotação determinada através da Equação 7.14, tem-se que:

$$N_2 \cdot D_{i2}^{2/3} = N_1 \cdot D_{i1}^{2/3} \quad \text{Equação 7.15}$$

$$N_2 \cdot D_{i2}^{2/3} \left( \frac{D_{i2}^{1/6}}{N_2^{2/3}} \cdot \frac{N_2^{2/3}}{D_{i2}^{1/6}} \right) = N_1 \cdot D_{i1}^{2/3} \cdot \left( \frac{D_{i1}^{1/6}}{N_1^{2/3}} \cdot \frac{N_1^{2/3}}{D_{i1}^{1/6}} \right) \quad \text{Equação 7.16}$$

Lembrando que:

$$t_m \propto \frac{D_i^{1/6}}{N^{2/3}} \quad \therefore t_{m1} = \frac{D_{i2}^{1/6}}{N_2^{2/3}} \quad \text{e} \quad t_{m2} = \frac{D_{i1}^{1/6}}{N_1^{2/3}} \quad \text{Equação 7.17}$$

Com isso,

$$N_2 \cdot D_{i2}^{2/3} \cdot t_{m2} \cdot \frac{N_2^{2/3}}{D_{i2}^{1/6}} = N_1 \cdot D_{i1}^{2/3} \cdot t_{m1} \cdot \frac{N_1^{2/3}}{D_{i1}^{1/6}} \quad \text{Equação 7.18}$$

Logo,

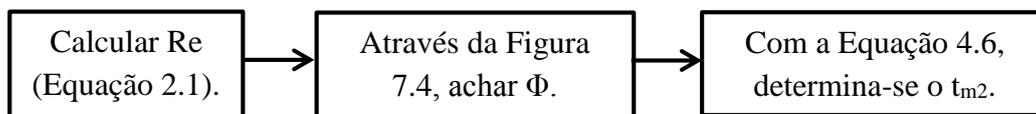
$$\frac{t_{m2}}{t_{m1}} = \frac{N_1 \cdot D_{i1}^{2/3} \cdot D_{i2}^{1/6} \cdot N_1^{2/3}}{N_2 \cdot D_{i2}^{2/3} \cdot D_{i1}^{1/6} \cdot N_2^{2/3}} \quad \text{Equação 7.19}$$

Portanto, o tempo de mistura da nova escala ( $t_{m2}$ ) pode ser determinado através da Equação 7.20.

$$t_{m2} = t_{m1} \cdot \left( \frac{N_1}{N_2} \right)^{5/3} \cdot \left( \frac{D_{i1}}{D_{i2}} \right)^{1/2} \quad \text{Equação 7.20}$$

Outra forma de se determinar o tempo de mistura ( $t_{m2}$ ) da nova escala, é conforme mostra a Figura 7.3.

Figura 7.3 – Memorial de cálculo para a obtenção do tempo de mistura.



Para estimar a potência (P) na nova escala, tem-se que:

$$P = \frac{N_p}{\rho \cdot N^3 \cdot D_i^5} \quad \text{Equação 7.21}$$

Lembrando que no aumento de escala,  $\rho$  e  $\mu$  são constantes e no regime turbulento  $N_p$  também mantém-se constante.

Portanto:

$$\frac{P_2}{P_1} = \frac{N_2^3 \cdot D_{i2}^5}{N_1^3 \cdot D_{i1}^5} \quad \text{Equação 7.22}$$

Logo, a estimativa do consumo de potência da nova escala ( $P_2$ ), no regime turbulento, pode ser expressa pela Equação 7.23:

$$P_2 = P_1 \cdot \left(\frac{N_2}{N_1}\right)^3 \cdot \left(\frac{D_{i2}}{D_{i1}}\right)^5 \quad \text{Equação 7.23}$$

### 7.3 Resultados e discussões

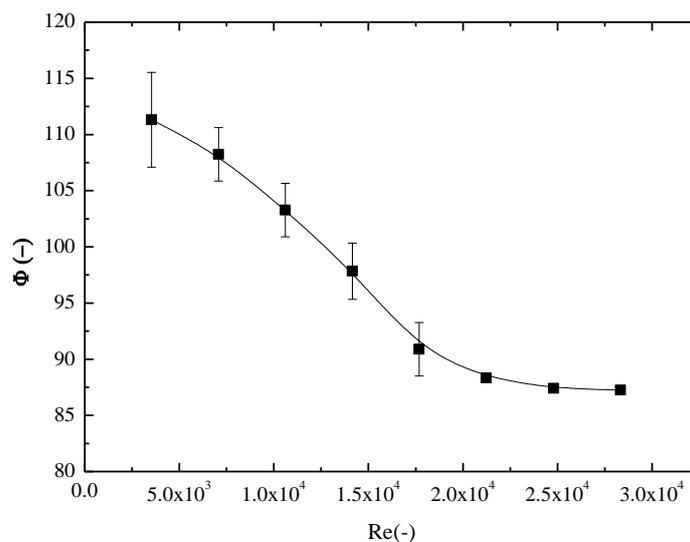
Sendo o tempo de mistura ( $t_m$ ) um parâmetro característico de um determinado processo, a relação entre o fator de tempo de mistura ( $\Phi$ ), os parâmetros geométricos e também as condições de operação, são essenciais para o aumento de escala.

A Figura 7.4 mostra o fator tempo de mistura ( $\Phi$ ) em função do número de Reynolds ( $Re$ ) para a configuração (4), a qual teve os melhores resultados. Observa-se nesta Figura 7.4 que para  $Re > 2,5 \times 10^4$ , o fator tempo de mistura torna-se constante, fato este também descrito por Bailey e Ollis (1986).

O fator tempo de mistura ( $\Phi$ ) foi determinado pela Equação 4.6, proposta por Norwood e Metzner (1960).

$$\Phi = \frac{t_m (N \cdot D_i^2)^{2/3} \cdot g^{1/6} \cdot D_i^{1/2}}{H_L^{1/2} \cdot D_T^{3/2}} \quad \text{Equação 4.6}$$

Figura 7.4 - Fator tempo de mistura ( $\Phi$ ) em função do número de Reynolds ( $Re$ ) para a configuração 4 – EEDP - EEUP.



Supondo um fator de aumento de escala de 1000, ou seja, realizar hidrólise

enzimática do bagaço de cana-de-açúcar em um reator de 3000L ( $3\text{m}^3$ ) geometricamente semelhante ao reator de 3L ( $0,003\text{ m}^3$ ) utilizado neste trabalho. Entre os critérios de ampliação de escala mais recomendados para biorreatores convencionais, utilizou-se para fins de comparação dois critérios: tempo de mistura ( $t_m$ ) e potência por unidade de volume ( $P/V$ ).

### 7.3.1 Constância do tempo de mistura ( $t_m$ )

Usando o mesmo valor de tempo de mistura obtido com a configuração (4) com uma rotação de 470 rpm ( $t_m = 47,5\text{ s}$ ) e com as novas dimensões do reator ( $D_i=0,80\text{ m}$ ,  $H_L=2,10\text{ m}$  e  $D_T=1,60\text{ m}$ ) foi possível obter a nova velocidade de rotação ( $N$ ) da nova escala ( $3\text{ m}^3$ ) a partir da Figura 7.4 de forma iterativa como mostrado na Figura 7.2, obteve-se uma rotação de 13,86 rps (831,9 rpm). A partir do valor de  $N$ , obteve-se o valor do número de Reynolds modificado para nova escala ( $Re=3,1 \times 10^6$ , regime turbulento), e sabendo que para a configuração (4) quando  $Re > 1 \times 10^4$ ,  $N_P = 1,75 \pm 0,12$ , então estimou-se o consumo de potência na nova escala de 1572 kW ( $524\text{ kW} \cdot \text{m}^{-3}$ ).

Outra maneira de se obter a rotação é utilizando a Equação 7.3 e com as dimensões do reator de 3000L ( $3\text{m}^3$ ), a nova rotação foi 13,92 rps (835,8 rpm). Nota-se que as rotações obtidas com o auxílio da Figura 7.4 (forma interativa) e através das equações propostas na literatura ficaram bem próximas, demonstrando que esse protocolo de aumento de escala demonstrou-se adequado.

Neste caso, o consumo de potência ( $P$ ) foi muito sensível para o critério de  $t_m$  constante, resultando num aumento de aproximadamente 500.000 vezes quando comparado com a escala de bancada ( $0,003\text{m}^3$ ). Este consumo de potência é muito elevado para ser aceitável em um biorreator de grande escala. Portanto, a manutenção do tempo de mistura não foi adequada neste estudo.

### 7.3.2 Constância do consumo de potência por unidade de volume ( $P/V$ )

De acordo com Bailey e Ollis (1986) e McCabe et al. (2005), outro critério amplamente utilizado em estudos de aumento de escala é a manutenção do critério de consumo de potência por unidade de volume ( $P/V$ ). De acordo com a Equação 7.14, a nova rotação ( $N$ ) obtida, com este critério, é 103,4 rpm ( $Re=3,9 \times 10^5$ ), resultando em um consumo de potência de 3,30 kW ( $1,10\text{ kW} \cdot \text{m}^{-3}$ ). A determinação do tempo de mistura da nova escala, foi obtido conforme mostrado na Figura 7.3. Calculou-se o número de Reynolds ( $3,9 \times 10^5$ ) e sabendo que quando  $Re > 2,5 \times 10^4$ , o fator tempo de mistura ( $\Phi$ ) é

constante (87,4 obtido através da Figura 7.4) e utilizando a Equação 4.6 com as novas dimensões ( $D_i=0,80$  m,  $H_L=2,10$  m e  $D_T=1,60$  m), então foi determinado o tempo de mistura da nova escala ( $3m^3$ ) como sendo  $t_m = 191,76s$ . Comparando este resultado (obtido com o auxílio da Figura 7.4) com o tempo de mistura calculado através da Equação 7.20 (187,61s), nota-se uma diferença de apenas 2,18%. Este resultado demonstra, mais uma vez, que o protocolo proposto neste estudo para o aumento de escala foi satisfatório.

O tempo de mistura e consumo de potência da nova escala ( $3m^3$ ) foram aproximadamente 4 e 1000 vezes maiores, respectivamente, do que o obtido em pequena escala ( $0,003m^3$ ). Conforme mencionado por Joaquim Jr *et al.* (2007), um tanque em grande escala apresenta um tempo de mistura maior quando comparado com um tanque em escala de bancada, devido à alta capacidade de bombeamento do reator de escala menor. A Tabela 7.1 apresenta um resumo dos resultados obtidos no estudo de aumento de escala.

Tabela 7.1 – Resumo dos dados de *scale-up* do processo estudado.

Relações entre as variáveis	Critérios para ampliação de escala	
	P/V constante	$t_m$ constante
$N_2/N_1$	0,2	1,7
$P_2/P_1$	993,4	$5,6 \times 10^5$
$t_{m2}/t_{m1}$	4,1	1

De acordo com Nielsen et al. (2002), o consumo de energia em biorreatores em grande escala deve ser de 1 a 5  $kW \cdot m^{-3}$ . Com os resultados obtidos, é evidente que, neste estudo, o melhor parâmetro a ser mantido constante em um provável aumento de escala é o consumo de potência por unidade de volume (P/V).

## 7.4 Conclusões

O protocolo de aumento de escala mostrou-se satisfatório, uma vez que os resultados obtidos através do método gráfico do adimensional fator tempo de mistura em função do número de Reynolds ficaram bem próximos com os resultados obtidos através das equações propostas na literatura.

## **CAPÍTULO 8 - CONCLUSÕES FINAIS**

Para as condições operacionais utilizadas e diante dos resultados obtidos neste trabalho, têm-se as conclusões finais:

### **Capítulo 3:**

O projeto e a construção do aparato experimental foram adequados, uma vez que possibilitou atingir todos os objetivos propostos nesta tese de maneira satisfatória.

### **Capítulo 4:**

A metodologia proposta de tempo de mistura foi adequada para a escolha da melhor configuração de impelidores, bem como para determinar a melhor rotação a ser utilizada na hidrólise enzimática. Observou-se grande superioridade da configuração formada pelos impelidores EEDP-EEUP em relação às demais configurações, obtendo-se uma eficiência energética ( $E_E$ ) cerca de três vezes maior do que o encontrado para a configuração padrão (RT-RT).

### **Capítulo 5:**

Os experimentos realizados no modo batelada alimentada mostraram que é possível obter uma maior concentração de glicose comparada com a operação no modo batelada. Na hidrólise enzimática em batelada alimentada com adição simultânea de substrato e enzima obteve-se um aumento na eficiência energética de 52% em relação a operação no modo batelada.

### **Capítulo 6:**

A eficiência energética obtida na hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor mostrou-se bastante superior aos obtidos nos processos de hidrólise enzimática com palha e bagaço hidrotérmico.

### **Capítulo 7:**

O protocolo de aumento de escala mostrou-se satisfatório, sendo que os resultados obtidos neste estudo mostraram que o melhor parâmetro a ser mantido constante, em um aumento de escala, é o consumo de potência por unidade de volume.

## CAPÍTULO 9 - SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados obtidos, constata-se a possibilidade da continuidade destes estudos sobre a hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos, uma vez que a escolha adequada de impelidores e a avaliação dos parâmetros aqui estudados como tempo de mistura, consumo de potência e viscosidade aparente são de suma importância para viabilidade técnico-econômica do processo de produção de etanol de segunda geração.

Assim, tem-se as seguintes sugestões para a realização de trabalhos futuros:

- modelagem e validação experimental de um modelo de perfil ótimo de alimentação com base nos dados obtidos neste estudo, tendo como objetivo atingir altas concentrações de glicose associado a um baixo consumo de potência;
- realização de hidrólise enzimática com uma rotação variável ao longo do processo;
- realização de hidrólise enzimática, em batelada alimentada, com concentração final de sólidos de 30%.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVIRA, P; TOMÁS-PEJÓ, E; BALLESTEROS, M., NEGRO, M J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, 101:4851-4861, 2010.
- ANFAVEA - Associação Nacional dos Fabricantes de Veículos Automotores, 20154.
- ANP - Agência Nacional de Petróleo, *Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis*, 20135.
- ASCANIO, G., CASTRO, B., GALINDO, E. - Measurement of power consumption in stirred vessels - a review. *Chemical Engineering Research and Design*, 82(A9):1282-1290, 2004.
- BADINO, A. C.; BARBOZA, M.; HOKKA, C. O. Power input and oxygen transfer in fed- batch penicillin productions process. *Advances in Bioprocess Engineering*, Netherlands Kluwer Academic Publishers, p. 157-162, 1994.
- BADINO, A.C. - Notas de aula, 2012.
- BAILEY, J.E., OLLIS, D.F. - *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2ª ed., McGraw-Hill, 1986.
- BALAT, M.; BALAT, H.; ÖZ, C. - Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(25):551-553, 2008.
- BATTAGLINI, N. M. P. - Avaliação do comportamento de impelidores especiais em mistura de fluidos. UNESP Botucatu, Tese de Doutorado, 1998.
- BATTAGLINI, N.M.P., RAZUK, P.C. - Contribuição ao estudo sobre agitação de fluidos de alta viscosidade e não - Newtonianos. Simpósio Intercâmbio Brasil-Japão em Sustentabilidade, 2010.
- BERNARDO NETO, O. - Integração das principais tecnologias de obtenção de etanol através do processamento de celulose (2º geração) nas atuais usinas de processamento de cana-de-açúcar (1º geração). *Dissertação de Mestrado*. USP, 137p, 2009.
- BOSCO, F. - Novo status para o bagaço. *Revista ALCOOLbras*. Edição 121, 2009.
- BUSTAMANTE, M.C.C. - Transferência de oxigênio e Condições de Cisalhamento em Biorreator Convencional com Impelidores Orelha de Elefante. *Tese de Doutorado*, UFSCar, 222p, 2013.

- CALDERBANK, P. H., MOO-YOUNG, M. B. - The prediction of power consumption the agitation of non-Newtonian fluids. *Transactions of the Institution Chemical Engineers*, 37A: 1959.
- CAMPESI, A. - Avaliação da velocidade de cisalhamento média em biorreator convencional tipo tanque agitado e aerado, *Dissertação de Mestrado*, UFSCar, 104p, 2007.
- CAMPESI, A., CERRI, M. O., HOKKA, C. O., BADINO, A. C., Determination of the average shear rate in a stirred and aerated tank bioreactor, *Bioprocess Biosyst Eng.* 32:241-248, 2009.
- CANNELLA, D., JORGENSEN, H. - Do new cellulolytic enzyme preparations affect the industrial strategies for high solids lignocellulosic ethanol production? *Biotechnology and Bioengineering*, 11(1):59-68, 2014.
- CARLI, C. M – Hidrólise e fermentação do bagaço de cana-de-açúcar em escala de bancada para a produção de etanol de 2G. *Dissertação de mestrado*, UFSCAR, São Carlos, 2011.
- CASCAVAL, D., GALACTION, A.I., TURNEA, M. - Comparative analysis of mixing distribution in aerobic stirred bioreactor for simulated yeasts and fungus broths. *J. Ind Microbiol Biotechnol.* 34:35-47, 2007.
- CAVALCANTI-MONTAÑO, I.D., SUAREZ, C.A.G., RODRÍGUEZ-ZÚÑIGA, U.F., GIORDANO, R.L.C., GIORDANO, R.C., JÚNIOR, R.S. - Optimal bioreactor operational policies for the enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. *Bioenerg. Res.* 6:776-785, 2013.
- CERRI, M.O. - Hidrodinâmica e transferência de oxigênio em três biorreatores airlift de circulação interna, geometricamente semelhantes, Tese de Doutorado, UFSCar, 178 p., 2009.
- CGGE - Bioetanol combustível: uma oportunidade para o Brasil - *Centro de Gestão e Estudos Estratégicos*, 2009.
- CHEMMÉS, C.S., SILVA F. C., SOUZA, L. S., JUNIOR, R. A. A., CAMPOS, L.M.A. Estudo de métodos físico-químicos no pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos para produção de etanol de segunda geração. *XII SEPA - Seminário Estudantil de Produção Acadêmica*, UNIFACS, 2013.
- CHEN, M., M., XIA, L., XUE, P. - Enzymatic hydrolysis of corncob and ethanol production from cellulosic hydrolysate. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 59:85-89, 2007.
- CHISTI, Y. - Hydrodynamic damage to animal cells. *C. Rev. Biotech.*, 21:67-110, 2001.

- COLLIGNON, M.L., DELAFOSSE, A., CRINE, M., TOYE, D. - Axial impeller selection for anchorage e dependent animal cell culture in stirred bioreactors: methodology based on the impeller comparison at just-suspended speed of rotation. *Chem. Eng. Sci.* 65:5929–5941, 2010.
- CORRÊA, L.J. CRUZ, A.J.G. Estudo do comportamento reológico de amostras de bagaço de cana-de-açúcar durante ensaio de hidrólise enzimática. *XIX Simpósio Nacional de Bioprocessos e SINAFERM - X Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassa SHEB*, Foz do Iguaçu - PR, 2013.
- CORRÊA, L.J., BADINO, A.C., CRUZ, A.J.G. - Avaliação de diferentes configurações de impelidores na hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar. *XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química*, Florianópolis, 2014.
- CORRÊA, L.J., BADINO, A.C., CRUZ, A.J.G. - Protocolo de aumento de escala no processo de hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar em reator convencional. *XX Simpósio Nacional de Bioprocessos e XI Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassa*, Fortaleza – CE, 2015 (b)
- CORRÊA, L.J., FURLONG, V.B., BADINO, A.C., CRUZ, A.J.G. - Estudo de diferentes estratégias de alimentação de substrato e enzima na etapa de hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar. *XX Simpósio Nacional de Bioprocessos e XI Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassa*, Fortaleza – CE, 2015(a)
- CORTEZ, L., MAGALHAES, P., HAPPI, J. - Principais subprodutos da agroindústria canieira e sua valorização. *Revista Brasileira de Energia*, Vol. 2, nº2, 1992.
- COSTA, C.B.B., FURLAN, F.F., CRUZ, A.J.G., GIORDANO, R.L.C; GIORDANO, R.C. - Integrated Production of 1G-2G Bioethanol and Bioelectricity from Sugarcane: Impact of Bagasse Pretreatment Processes, in: da Silva, S. S., Chandel, A. K. (Eds.), *Biofuels in Brazil*. Springer International Publishing, pp. 85-95, 2014.
- CREMASCO, M. A. - Operações unitárias em sistemas particulados e fluidomecânicos. Blucher, São Paulo, 2012.
- CUI, M., ZHANG, Y., HUANG, R., SU, R., Q.I., W., H.E., Z. - Enhanced enzymatic hydrolysis of lignocellulose by integrated decrystallization and fed-batch operation. *Royal Society of Chemistry*, 4:44659–44665, 2014
- CURVELLO, A. A. S. - Processos de deslignificação organossolve. USP, *Tese de Doutorado*, 110p, 1992.
- DASARI, R.K., BERSON, R.E. - The effect of particle size on hydrolysis reaction rates and Rheological Properties in cellulosic slurries. *Appl. Biochem. and Biotech.*, p. 288-299, 2007.

- DASARI, R.K, DUNAWAY, K, BERSON, R.E. - A Scraped Surface Bioreactor for Enzymatic Saccharification of Pretreated Corn Stover Slurries. *Energy Fuel*, p. 492–497, 2009.
- DU, J., ZHANG, F., LI, Y., ZHANG, H., LIANG, J., ZHENG, H., HUANG, H. - Enzymatic liquefaction and saccharification of pretreated corn stover at high-solids concentrations in a horizontal rotating bioreactor. *Bioprocess Biosyst Eng* 37:173-181, 2014.
- DUNAWAY, K.W, DASARI, R.K., BENNETT, N.G., BERSON, R.E. - Characterization of changes in viscosity and insoluble solids content during enzymatic saccharification of pretreated corn stover slurries. *Bioresource Technology*, 101:3575–3582, 2010.
- EL BASSAN, N. - Handbook of bioenergy crops – A complete reference to species, development and applications, 1<sup>o</sup>ed. Earthscan, Washington DC, 2010.
- FARINA, E., RODRIGUES, L., SOUSA, E.L. - A política de Petróleo e a Indústria de etanol no Brasil. *Revista Interesse Nacional*, 2013.
- FENGEL, D., WEGENER, G. - Wood chemistry, ultrastructure, reactions. Berlin, 1989.
- FU, C. C., WU, W. T., LU, S. Y. - Performance of airlift bioreactors with net draft tube. *Enzyme and Microbial Technology* 33:332–342, 2003.
- FURLAN, F.F, TONON FILHO, R., PINTO, F.H.P.B., COSTA, C.B.B., CRUZ, A.J.G., GIORDANO, R.L.C., GIORDANO, R.C. - Bioelectricity versus bioethanol from sugarcane bagasse: is it worth being flexible? *Biotechnol Biofuels*, 6:142, 2013.
- GARAVITO, A.M.T. - Determinação experimental do consumo de potência para impelidores âncora e helicoidal usando fluidos pseudoplásticos de alta viscosidade. UNICAMP, *Dissertação de Mestrado*, 81p, 2013.
- GARCIA. A.P.C. – Desenvolvimento de um processo integrado de pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar. *Programa bolsa de verão*. Curitiba, 2011.
- GEDDES, C.C., MULLINNIX, M.T., NIEVES, I.U., HOFFMAN, R.W., SAGUES, W.J., YORK, S.W., SHANMUGAM, K.T., ERICKSON, J.E., VERMERRIS, W.E., INGRAM, L.O. - Seed train development for the fermentation of bagasse from sweet sorghum and sugarcane using a simplified fermentation process. *Bioresour. Technol.* 128:716-724, 2013.
- GHOSE, T.K - Measurement of cellulase activities. *Pure & Appl. Chem.*, 59(2):257-268, 1987.
- GOUVEIA, E.R., NASCIMENTO, R. T., ROCHA, G.J.M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. *Química Nova*, 32:1500-1503, 2009.

- GREGG, D.J., SADDLER, J.N. - Factors affecting cellulose hydrolysis and the potential of enzyme recycle to enhance the efficiency of an integrated wood to ethanol process. *Biotechnology and Bioengineering*, 51:375-383, 1996.
- GUPTA, R., KUMAR, S., GOMES, J., KUHAD, R.C. - Kinetic study of batch and fed-batch enzymatic saccharification of pretreated substrate and subsequent fermentation to ethanol. *Biotechnology for Biofuels*, 5:16, 2012.
- HIGUCHI, T. Biodegradation of lignin: biochemistry and potential applications. *Experientia*, 38(2):159-166, 1982.
- HODGE, D.B., KARIM, M.N., SCHELL, D.J., MCMILLAN, J.D. - Model-based fed-batch for high-solids enzymatic cellulose hydrolysis. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 152:88-107, 2009.
- HORN, S. J., VAAJE-KOLSTAD, G., WESTERENG, B., EIJSINK, V.G.H. - Novel enzymes for the degradation of cellulose. *Biotechnology for Biofuels*, 5:45, 2012.
- INFOPETRO - Crise de oferta no mercado do etanol: conjuntural ou estrutural? *Blog Infopetro*, 2011.
- IROBA, K. L., TABIL, L. G., SOKHANSANJ, S., DUMONCEAUX, T. - Pretreatment and fractionation of barley straw using steam explosion at low severity factor. *Biomass and bioenergy*, 2014.
- ISSA, H.M., POUX M., XUEREB, C. - Surface aeration for water treatment agitated tank mixing time, power consumption and hydrodynamics. *14<sup>th</sup> European Conference on Mixing*. 2012.
- JARDIM, H.A.S.P.M. - Projeto, construção e desenvolvimento metodológico de um aparelho de destilação. Estudo de caso: produção de etanol anidro via destilação extrativa utilizando glicerol, UFSCar, *Dissertação de Mestrado*, 2014.
- JOAQUIM JUNIOR, C.F., CEKINSKI, E., NUNHEZ, J.R., URENHA, L.C. - Agitação e mistura na indústria. Editora LTC, Rio de Janeiro, 2012.
- KELLY, W., GIGAS, B. - Using CFD to predict the behavior of power law fluids near axial flow impellers operating in the transitional flow regime. *Chem. Eng. Sci.*, v. 58:2141-2152, 2003.
- KIM, S., HOLTZAPPLE, M.T. - Lime pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresour. Technol.*, 96:1994-2006, 2005.
- KIM, Y., XIMENES, E., MOSIER, N.S., LADISCH, M. - Soluble Inhibitors/Deactivators of Cellulase Enzymes from Lignocellulosic Biomass. *Enzyme and Microbial Technology*, 48(4-5):408-415, 2011.

- KIM, Y., KREKE, T., KO, J-K., LADISCH, M.R - Hydrolysis-Determining Substrate Characteristics in Liquid Hot Water Pretreated Hardwood. *Biotechnology and Bioengineering*, 112(4):677-687, 2015.
- KNAUF M., MONIRUZZAMAN M. - Lignocellulosic biomass processing: A perspective. *International Sugar Journal*, Vol. 106, n° 1263, 2004.
- KNUTSEN, J.S., LIBERATORE, M.W. - Rheology Modification and Enzyme Kinetics of High Solids Cellulosic Slurries. *Energy Fuels*, 24:3267–3274, 2010.
- KO, J-K, XIMENES, E., KIM, Y., LADISCH, M.R. - Adsorption of Enzyme Onto Lignins of Liquid Hot Water Pretreated Hardwoods. *Biotechnology and Bioengineering*, 112(3):447-456, 2015.
- KORDAS, M., STORY, G., KONOPACKI, M., RAKOCZY, R. - Study of Mixing Time in a Liquid Vessel with Rotating and Reciprocating Agitator. *Ind. Eng. Chem. Res.* 52:13818-13828, 2013.
- KRAMERS, H., BAARS, G.M., KNOLL, W. H. - A comparative study on the rate of mixing in stirred tanks. *Chemical Engineering Science*, 2:35-42, 1953.
- KRISTENSEN, J.B., FELBY, C., JORGENSEN, H. - Yield-determining factors in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose. *Biotechnol Biofuels*, 2:11, 2009.
- LEE, Y., FAN, L.T. - Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose: analysis of the initial rates. *Biotechnology and Bioengineering*, 24:2383-2406, 1982.
- LIU, Y., XU, J., ZHANG, Y., YUAN, Z., XIE, J. - Optimization of high solids fed-batch saccharification of sugarcane bagasse based on system viscosity changes. *Journal of Biotechnology*, 211:5-9, 2015.
- MACEDO, I. C – Situação atual e perspectivas do etanol. 2007.
- MAGELLI, F., MONTANTE, G., PINELLI, D., PAGLIANTI, A. - Mixing time in high aspect ratio vessels stirred with multiple impellers. *Chemical Engineering Science*, 101:712-720, 2013.
- MANTELATOO, P.E. Estudo da Cinética de cristalização de soluções impuras de sacarose de cana-de-açúcar por resfriamento. 2005. *Dissertação de mestrado UFSCar*, 2005.
- MANZANARES, P., NEGRO, J.M., OLIVA, J.M., SAÉZ, F., BALLESTEROS, I., CARA, C., CASTRO, E., RUIZ, E. - Different process configurations for bioethanol production from pretreated olive pruning biomass. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 86:881-887, 2011.

- MARQUES, M.O., MARQUES, T.A., TASSO JÚNIOR, L.C. - Tecnologia do açúcar. Produção e industrialização da cana-de-açúcar. Jaboticabal, Funep. 2001.
- MARTINI, T.L. – Influência dos impelidores e condições de mistura na produção de insumos químicos para o setor coureiro. Trabalho de conclusão de curso. UFRGS, 2010.
- MAYR, B., HORVAT, P., MOSER, A. - Engineering approach to mixing quantification in bioreactors. *Bioprocess Engineering*, 8:137-143, 1992.
- McCABE, W.L., SMITH, J.C., HARRIOT, P., Unit operations of Chemical Engineering, 6° ed., *Editora McGraw-Hill*, 2001.
- McCABE, W.L., SMITH, J.C., HARRIOT, P., Unit operations of Chemical Engineering, 7° ed., *Editora McGraw-Hill*, 2005.
- MEDINA-TORRES, L., NÚÑEZ-RAMÍREZ, D. M., VALENCIA-LÓPEZ, J. J., CALDERAS, F., SOLÍS-SOTO, A., LÓPEZ-MIRANDA, J., MEDRANO-ROLDÁN, H. - Mixing Analysis for a Fermentation Broth of the Fungus *Beauveria bassiana* under Different Hydrodynamic Conditions in a Bioreactor. *Chem. Eng. Technol*, 35(11):1954-196, 2012.
- MOHAGHEGHI, A, TUCKER, M, GROHMANN, K, WYMAN, C. - High solids simultaneous saccharification and fermentation of pretreated wheat straw to ethanol. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 33:67-81, 1992.
- MOSIER, N; WYMAN, C; DALE, B; ELANDER, R; LEE, Y Y; HOTZAPPLE, M; LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol*, 96:673-686, 2005.
- NAGATA, S.- Mixing: principles and applications. John Wiley & Sons Inc, New York, 1975.
- NIELSEN, J., VILLADSEN J., LIDÉN, G. - Bioreaction engineering principles, 2°ed., New York, 2002.
- NORWOOD, K.W., METZNER, A.B. – Flow patterns and mixing rates in agitated vessels. *A. I. Ch. E. J.* 6:432-437, 1960.
- OLIVEIRA, L. R. M., Estudo de alternativas de pré-tratamento e hidrólise do bagaço e palha de cana-de-açúcar para obtenção de etanol a partir da celulose, USP Lorena, Tese de Doutorado, 109p, 2012.
- OLSSON, L., HAHN- HAGERDAL, B., - Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. *Enzyme and Microbial Technology*, 1996.
- OUYANG, J., BAOTIAN, L., ZHANG, M., ZHENG, Z., YU, HENG. - Enzymatic hydrolysis, adsorption, and recycling during hydrolysis of bagasse sulfite pulp. *Bioresour. Technol*, (146):288-293, 2013.

- PALMQVIST, B., LIDÉN, G. - Torque measurements reveal large process differences between materials during high solid enzymatic hydrolysis of pretreated lignocellulose. *Biotechnology for Biofuels*, 5:57, 2012.
- PALMQVIST, B., WIMAN, M., LIDÉN, G. - Effect of mixing on enzymatic hydrolysis of steam-pretreated spruce: a quantitative analysis of conversion and power consumption. *Biotechnol Biofuels* 4:10, 2011.
- PANDEY, A., SOCCOL, C.R., NIGAM, P., SOCCOL, V.T. Biotechnological potential of agro-industrial residues: sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, 74:69-80, 2000.
- PARREIRA, P.M. – Projeto e operação de hidratadores industriais de cal virgem. UFU, *Dissertação de Mestrado*, 141p, 2010.
- PEREIRA, L.T.C., BON, E.P.S, TEIXEIRA, R.S.S., PEREIRA, L.T.C, FREITAS, S.P. Sugarcane bagasse enzymatic hydrolysis: rheological as criteria for impeller selection. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 38:901-907, 2011.
- PERRY, R.H., CHILTON, C.H. - Chemical engineers. 5<sup>o</sup>ed. Japan: McGraw-Hill Kogakuska Ltda. 1973.
- PETROBRÁS - Biocombustível investe em etanol de segunda geração. *Informe Petrobrás*, 2012.
- PETROBRÁS - Etanol Sem Fronteira. *Petrobrás Biocombustível*, 2014.
- PIMENOVA, N.V., HANLEY A.R. - Measurement of Rheological Properties of Corn Stover Suspensions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 106:383-392, 2003.
- PITARELO, A.P. - Produção de etanol celulósico a partir do bagaço de cana pré-tratado por explosão a vapor. *Tese de Doutorado*, 162p, UFPR, 2013.
- PURI, J.D., HEAVEN, S., BANKS, C.J. - Improving the performance of enzyme in hydrolysis of high solid paper pulp derived from MSW. *Biotechnology Biofuels*, 6:107, 2013.
- RABELO, S.C., Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração, Unicamp. *Tese de Doutorado*, 447p, 2010.
- RAMOS, L.P. - Aproveitamento integral de resíduos agrícolas e agroindustriais. *CEPESQ/UFPR, RRSI, SMA/FIESP*, 2000.
- RIPOLI, T.C.C., RIPOLI, M.L.C. - Sistemas de colheitas de colmos. In: Santos, F.; Borém, A.; Caldas, C. (Ed.). Cana-de-Açúcar: Bioenergia, Açúcar e Etanol – Tecnologias e Perspectivas. Viçosa – UFV. p. 271-312, 2012.

- ROCHA, G.J.M., GONÇALVES, A.R., OLIVEIRA, B.R., OLIVARES, E.G., ROSSEL, C.E.V. - Steam explosion pretreatment reproduction and alkaline delignification reactions performed on a pilot scale with sugarcane bagasse for bioethanol production. *Industrial Crops and Products*, 35:274-279, 2012.
- ROCHA, G.J.M.; SILVA, F.T.; CURVELO, A.A.S.; ARAÚJO, G.T - A fast and accurate method for determination of cellulose and polyoses by HPLC. In: *FifthV Braz. Symp. Chem.*, vol. 5, 113-115, 1997.
- RODRIGUES, R.C.L.B. FELIPE, M.G.A., SILVA, J.B.A., VITOLO, M. - Response surface methodology for xylitol production from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolyzate using controlled vacuum evaporation process variables. *Process Biochemistry*. 38:1231-1237, 2003.
- ROJAS, M.J. - Produção de etanol e hidrolisado de protéico da casca de soja. UFSCar, Dissertação de Mestrado, 95p, 2012.
- ROSA, S.E.S., GARCIA J.L.F. - O etanol de segunda geração: limites e oportunidades. *Revista do BNDES*, 117-156, 2009.
- ROSGAARD, L., ANDRIC, P., DAM-JOHANSEN, K., PEDERSEN, S., MEYER, A.S. - Effects of Substrate Loading on Enzymatic Hydrolysis and Viscosity of Pretreated Barley Straw. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 143:27-40, 2007.
- RUDOLF, A., ALKASRAWI, M., ZACCHI, G., LIDÉN, G. - A comparison between batch and fed-batch simultaneous. *Enzyme and Microbial Technology*, 37:195-204, 2005.
- RUIZ, H.A., RUZENE, D.S., SILVA, D.P., QUINTAS, M.A.C., VICENTE, A.A., TEIXEIRA, J.A. - Evaluation of a hydrothermal process for pretreatment of wheat straw-effect of particle size and process conditions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 86:88-94, 2011.
- SAITO, I.M., CABELLO, C. - Produção de etanol a partir de hidrolisado obtido por tratamento hidrotérmico de farelo de mandioca. *Energ. Agric. Botucatu*, 21(3): 34-44, 2006.
- SAMANIUK, J.R., SCOTT, C.T., ROOT, W.T., KLINGENBERG, D.J. - Rheological modification of corn stover biomass at high solids concentrations. *J. Rheol.* 56(3): 649-665, 2012.
- SÁNCHEZ - PÉREZ, J.A., PORCEL, E.M.R., LÓPEZ, J.L.C., FERNÁNDEZ, J.M.S., CHISTI, Y. - Shear rate in stirred tank and bubble column bioreactors. *Chemical Engineering Journal*, 124:1-5, 2006.
- SANTOS, D.S., Produção de etanol de segunda geração por *Zymomonas mobilis* naturalmente ocorrente e recombinante, empregando biomassa lignocelulósica. *Tese de Doutorado*, UFRJ, 218 p, 2012.

- SANTOS, F.A. - Avaliação do pré-tratamento hidrotérmico de palhas de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração. UFV, *Tese de Doutorado*, 2013.
- SANTOS-ROCHA, M.S.R., SOUZA, R.B.A., PRATTO, B., CRUZ, A.J.G. - Efeito da carga de sólidos no pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar e sua influência na hidrólise enzimática e fermentação. XX Simpósio Nacional de Bioprocessos e XI Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassa, 2015.
- SCHIMIDELL, W., BADINO, A.C. – Aumento de escala, in: Schimidell, W. (Ed.) *Biotecnologia Industrial*, Vol. 2, Engenharia Bioquímica, editora Edgard Blücher Ltda, São Paulo, 2001.
- SCHUTTEL, M., Bagaço de cana como fonte alternativa de energia. *Biotecnologia agrícola e florestal*, 2013.
- SEABRA, J.E.A., MACEDO, I.D.E.C. Avaliação técnico-econômica de opções para o aproveitamento integral da biomassa de cana no Brasil. Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Unicamp. *Tese de Doutorado*, 273p, 2008.
- SILVA, J.L.G., Análise crítica das correlações e parâmetros fundamentais em sistemas de agitação, UNICAMP, *Dissertação de Mestrado*, 193p, 2002.
- SILVA, M.G.E., SILVA JÚNIOR J.L., PINTO JÚNIOR C.R.T. Produção de Etanol de Segunda Geração: Uma Revisão. *Pensamento Plural: Revista Científica da UNIFAE*, v.4, n.2, 2010.
- SIMMONS, M.J.H., ZHU, H. HEWITT, C.J., NIENOW, A. - Mixing in a model bioreactor using agitators with a high solidity a ratio and deep blades, *Chem. Engineering Research and Design*, 85(A5):551-559, 2007.
- SOCCOL C.R., VANDENBERGHE, L.P.S., MEDEIROS, A.B.P., KARP, S.G., BUCKERIDGE M., RAMOS, L.P., PITARELO A.P., FERREIRA-LEITÃO, V., GOTTSCHALK, L.M.F., FERRARA M.A., BON, E.P.S., MORAES, L.M.P., ARAÚJO, J.A., TORRES, F.A.G., Bioethanol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil. *Bioresource Technology*, 101:4820-4825, 2010.
- SOUZA, E. - Consumo de potência para impelidores rápidos aplicados em processos de agitação e mistura. UNICAMP, *Tese de Doutorado*, 778p, 2011.
- SOUZA, R.B.A., PRATTO, B., CORRÊA, L.J., FURLONG, V.B., CRUZ, A.J.G. - Hidrólise enzimática da palha da cana-de-açúcar em frascos agitados e em reator de bancada. XX Simpósio Nacional de Bioprocessos e XI Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassa, 2015.
- SPOGIS, N. - Metodologia para determinação de curvas de potência e fluxos característicos para impelidores axiais, radiais e tangenciais utilizando a fluidodinâmica computacional. UNICAMP, *Tese de Doutorado*, 189p, 2002.

- STICKEL, J.J., KNUTSEN, J.S., LIBERATORE, M.W., LUU, W., BOUSFIELD, D.W., KLINGENBERG, D.J., SCOTT, C.T., THATCHER W. ROOT, T.W., EHRHARDT, M.R., MONZ, T.O. - Rheology measurements of a biomass slurry: an inter-laboratory study. *Rheol Acta*, 48:1005-1015, 2009.
- SZCZODRAK, J., FIEDUREK, J. - Technology for conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *Biomass and Bioenergy*, 10(5/6):367-375, 1996.
- SZOPLIK, J., KARCZ, J. An effect of the Eccentric Position of the Propeller Agitator on the Mixing Time. *Chemical Papers* 62:70-77, 2008.
- TAN, R.K., EBERHARD, W., BÜCHS, J. - Measurement and characterization of mixing time in shake flasks. *Chemical Engineering Science*, 66:440-447, 2011.
- UNICA - União da indústria da cana-de-açúcar, 20145.
- VIAMAJALA, S., MCMILLAN, J. D., SCHELL, D. J., ELANDER, R. T. - Rheology of corn stover slurries at high solids concentrations – Effects of saccharification and particle size. *Bioresource Technology*, 100:925-934, 2009.
- WACLAWOVSKY, A.J., SATO, P.M., LEMBKE, C.G., MOORE P.H., SOUZA G.M. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. *Plant Biotechnology Journal*, 8:263-276, 2010.
- WANDERLEY, M.C.A., MARTÍN, C., ROCHA, G.J.M. - Increase in ethanol production from sugarcane bagasse based on combined pretreatments and fed-batch enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 128:448–453, 2013.
- WILKENS, R.J., MILLER, J.D., PLUMMER, J.R., DIETZ, D.C., MYERS, K.J. - New techniques for measuring and modeling cavern dimensions in a Bingham plastic fluid. *Chemical Engineering Science*, 60:5269-5275, 2005.
- WIMAN, M., PALMQVIST, B., TORNBERG, E., LIDEN, G. - Rheological characterization of dilute acid pretreated softwood. *Biotechnology and Bioengineering*, 108(5):1031-1041, 2010.
- WYMAN, C.E. – What is (and is not) vital to advancing cellulosic ethanol. *Biotechnology*, vol., 25, n°4, 2007.
- XIMENES, E., KIM, Y., MOSIER, N., DIEN, B., LADISCH, M. - Deactivation of Cellulases by Phenols. *Enzyme and Microbial Technology* 48(1):54-60, 2011.
- XIMENES, E., KIM, Y., MOSIER, N.S., DIEN, B., LADISCH, M. - Inhibition of Cellulases by Phenols. *Enzyme and Microbial Technology* 46(3):170-176, 2010.
- ZACCHI, G., HAHN-HAGERDAL, B., GALBE, M.F., GORWA-GRAUSLUND, LIDÉN, G. – Bioethanol – The fuel of tomorrow from the residues of today. *Biotechnology*. 24 n°12, 2006.

- ZALDIVAR, J., OLSSON, L., NIELSEN, J. - Fuel ethanol production from lignocelluloses: a challenge for metabolic engineering and process integration. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001.
- ZHANG, A., TSANG V.L., KORKE-KSHIRSAGAR, R., RYLL, T. - Effects of pH probe lag on bioreactor mixing time estimation. *Process Biochemistry*. 49:913-916, 2014.
- ZHANG, B., SHAHBAZI, A., WANG, L., DIALLO, O., WHITMORE, A. - Hot-water pretreatment of cattails for extraction of cellulose. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 38:819–824, 2011.
- ZHAO, X., DONG, L., CHEN, L., LIU, D. - Batch and multi-step fed-batch enzymatic saccharification of Formiline-pretreated sugarcane bagasse at high solid loadings for high sugar and ethanol titers. *Bioresource Technology*. 135:350-356, 2013.
- ZHENG, Y., PAN, Z., ZHANG, R. - Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. *International Journal Agric & Biol Eng*, 2(3):51-68, 2009.
- ZHU, H., NIENOW, A.W., BUJALSKI, W., SIMMONS, M.J.H. - Mixing studies in a model aerated bioreactor equipped with an up- or a down-pumping ‘‘Elephant Ear’’ agitator: power, hold-up and aerated flow field measurements. *Chem. Eng. Res. Des.* 87:307–317, 2009.
- ZHU, L. - Fundamental study of structural features affecting enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass. Texas A&M University, 2005.