

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

# **Microrganismos na Produção de Biocombustíveis Líquidos**

*Cristina Maria Monteiro Machado*  
Editora Técnica

**Embrapa**  
Brasília, DF  
2013

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

### **Embrapa Agroenergia**

Parque Estação Biológica, PqEB s/n, Brasília, DF

Fone: (61) 3448-4246

Fax: (61) 3448-1589

www.cnpaee.embrapa.br

sac@cnpaee.embrapa.br

### **Unidade responsável pelo conteúdo e edição**

Embrapa Agroenergia

Comitê de Publicações da Embrapa Agroenergia

Presidente: *José Manuel Cabral de Sousa Dias*

Secretária-Executiva: *Anna Letícia M. T. Pighinelli*

Membros: *Larissa Andreani, Leonardo Fonseca Valadares, Maria Iara Pereira Machado.*

Supervisão editorial: *José Manuel Cabral de Sousa Dias*

Revisão de texto: *José Manuel Cabral de Sousa Dias*

Normalização bibliográfica: *Maria Iara Pereira Machado*

Projeto gráfico: *Maria Goreti Braga dos Santos*

Editoração eletrônica: *Editara Íthala*

Revisão editoração eletrônica: *Lia Licodiedoff Terbeck*

Capa: *Maria Goreti Braga dos Santos*

Fotos da capa: *Goreti Braga* (cana-de-açúcar e bagaço), *Patricia Barbosa* (usina) e *Paula Franco* (*Mucor* sp.)

Impressão: *Adescryn Gráfica Editora Ltda*

### **1ª edição**

1ª impressão (2013): 1.000 exemplares

### **Todos os direitos reservados.**

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

### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Agroenergia

---

M 626 Microorganismos na produção de biocombustíveis líquidos / editora técnica, Cristina Maria Monteiro Machado. — Brasília, DF: Embrapa, 2013.

319 p. : il. color. ; 18 cm x 25 cm.

ISBN 978-85-7035-155-5

1. Microorganismos- prospecção — melhoramento. 2. Microorganismos — produção de enzimas — biocombustíveis. 3. Microalgas — biocombustíveis. 4. Metagenômica — prospecção de enzimas — biocombustíveis. 5. Enzimas — produção — formulação. 6. Catálise enzimática — síntese — hidrólise. 7. Fermentação — leveduras — xilose. 8. Etanol. 9. Biobutanol. 10. Biodiesel. I. Machado, Cristina Maria Monteiro. II. Embrapa Agroenergia.

579 – CDD 22.

---

## AGRADECIMENTOS

---

Uma obra deste porte é viabilizada pelo esforço e apoio de muitos. Dessa forma os autores dirigem seus sinceros agradecimentos:

À equipe do Núcleo de Comunicação Organizacional da Embrapa Agroenergia, em especial à Maria Goreti Braga dos Santos, pelo projeto gráfico do livro e *design* da capa.

À equipe do Setor de Implementação da Programação e Transferência de Tecnologia, em especial à Maria Iara Pereira Machado pela revisão de citações e referências.

Aos colegas da Embrapa Agroenergia que desenharam as figuras: Felipe Brandão de Paiva Carvalho (Figura 8); Vítor Oliveira de Sousa Dias (Figura 9) e Diogo Keiji Nakai (Figura 14).

Ao professor Dr. João Lúcio de Azevedo (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo) pela leitura do capítulo “Bioprospecção e melhoramento genético de fungos para produção de enzimas aplicadas em biocombustíveis”.

Aos colegas da Embrapa Agroenergia Cesar Heraclides Behling Miranda, Bruno dos Santos Alves Figueiredo Brasil, Elaine Virmond e José Dílcio Rocha, pelas contribuições ao capítulo “Microalgas na produção de biocombustíveis líquidos”.

Ao Chefe de Transferência de Tecnologia da Embrapa Agroenergia, José Manuel Cabral de Sousa Dias, pelo suporte em todas as etapas de elaboração deste livro.

À FINEP, pelo financiamento da publicação (projeto “Implementação da Embrapa Agroenergia”).

# APRESENTAÇÃO

---

Apesar das crises econômicas de 2008 e 2012, que atingiram principalmente os Estados Unidos e a União Europeia, podemos dizer que o mundo vive hoje uma fase de prosperidade. Embora concentrado principalmente nos países integrantes do grupo denominado BRICS (Brasil, Rússia, Índia, China e África do Sul), o desenvolvimento econômico chegou a diversos outros rincões e continua avançando. Este momento de prosperidade provoca o aumento da demanda por energia, em especial para o setor de transportes. Os automóveis e os aviões são movidos quase exclusivamente por combustíveis líquidos. Enquanto este modelo energético do setor de transporte não for quebrado, cabe às diversas cadeias produtoras de combustíveis se movimentarem para suprir em plenitude a crescente demanda.

Os combustíveis líquidos podem ser divididos em dois grupos bem distintos: aqueles produzidos a partir de fontes não renováveis e aqueles produzidos a partir de fontes renováveis. Em longo prazo, a opção exclusiva pelo primeiro grupo é inviável por uma série de razões que não irei aqui discutir. O fato é que, em favor da sustentabilidade do planeta, tem de existir um esforço coletivo para desenvolver e fortalecer ainda mais o segundo grupo, aquele de fontes renováveis.

O Brasil é um protagonista na área dos chamados biocombustíveis líquidos, com ampla experiência em desenvolvimento científico e tecnológico, em produção e distribuição em larga escala, e em promoção da sustentabilidade das cadeias produtivas, com destaque para o etanol a partir da cana-de-açúcar e o biodiesel. Continuar protagonista neste cenário não será fácil. Exigirá um esforço amplo e robusto de todos os membros das cadeias produtoras de biocombustíveis no Brasil. Todos nós, governo, agricultores (pequenos, médios e grandes), agroindústria, universidades, centros de pesquisa, distribuidores etc., precisaremos deixar bem claro o que queremos e o que podemos fazer. É necessário arregaçar as mangas para um trabalho árduo e complexo, mas que tem a chance de fazer uma grande diferença para a continuidade deste momento de prosperidade, de forma sustentada, para o bem das próximas gerações.

Foi neste contexto que a equipe da Embrapa Agroenergia se lançou no desafio de construção deste livro “Microrganismos na Produção de Biocombustíveis Líquidos”, que agora apresentamos. O grupo de autores deste livro reconheceu a necessidade da organização e divulgação dos diversos temas-chave abordados no decorrer dos diversos capítulos aqui contidos. Esta é, para eles, uma das formas que nós pesquisadores temos de contribuir com o Brasil para vencer este imenso desafio.

Mas por que microrganismos na produção de biocombustíveis líquidos? A resposta é simples. Talvez resida aí o nosso maior diferencial, tendo em vista nossa imensa e ainda

tão pouco explorada biodiversidade, principalmente a de microrganismos. Neles esperamos encontrar as soluções mais ambientalmente amigáveis, eficientes em uso do tempo e diminuição dos custos, bem como eficazes nas soluções dos gargalos que limitam o setor. Fungos, bactérias, leveduras e microalgas são os portadores de muitas das soluções de que precisamos para garantir longa e sustentável vida aos biocombustíveis líquidos. Conhecê-los profundamente e utilizá-los sabiamente é um caminho que começa aqui e agora. Boa leitura!

Manoel Teixeira Souza Júnior, Ph.D.  
Chefe Geral da Embrapa Agroenergia

<b>BIOCOMBUSTÍVEIS LÍQUIDOS PRODUZIDOS POR MICRORGANISMOS.....</b>	<b>23</b>
Introdução .....	23
Etanol e a questão estratégica .....	25
Etanol e a questão tecnológica.....	28
Etanol e a questão da sustentabilidade.....	30
Referências .....	32
<b>BIOPROSPECÇÃO E MELHORAMENTO GENÉTICO DE FUNGOS PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS APLICADAS EM BIOCOMBUSTÍVEIS.....</b>	<b>35</b>
Introdução .....	35
Biodiversidade e bioprospecção .....	36
Aspectos gerais .....	36
Aspectos regulatórios.....	40
Fungos produtores de enzimas degradadoras de componentes da parede celular vegetal e de enzimas lipolíticas .....	41
Enzimas que degradam componentes da parede celular vegetal .....	41
Enzimas lipolíticas e sua aplicação na síntese de biodiesel.....	47
Melhoramento genético de fungos .....	50
Bases do melhoramento genético de fungos .....	50
Melhoramento de linhagens por mutagênese.....	51
Mutagênese seguida de seleção do fenótipo de interesse .....	51
Engenharia evolutiva.....	52
Melhoramento de linhagens por recombinação .....	53
Recombinação sexual .....	53
Recombinação parassexual .....	54
Recombinação por fusão de protoplastos .....	56
Recombinação por embaralhamento de genomas.....	57
Melhoramento de linhagens por engenharia genética .....	58
Ferramentas que facilitam a manipulação genética de fungos de interesse industrial.....	59
Considerações finais .....	62
Referências .....	64

**METAGENÔMICA PARA PROSPECÇÃO DE ENZIMAS VISANDO  
A PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS ..... 81**

Introdução .....	81
Metagenoma .....	81
Prospecção de enzimas para produção de etanol celulósico .....	86
Etanol celulósico .....	86
Glicosil Hidrolases .....	88
Celulases .....	89
Hemicelulases .....	90
Inibidores da fermentação para etanol .....	91
Prospecção de enzimas para produção de biodiesel .....	92
Produção de Biodiesel .....	92
Lipases .....	94
Conclusão .....	94
Referências .....	95

**PRODUÇÃO E IMOBILIZAÇÃO DE ENZIMAS APLICADAS À PRODUÇÃO  
DE ETANOL E BIODIESEL ..... 101**

Introdução .....	101
Caracterização do mercado de lipases e celulases .....	103
Produção de enzimas microbianas .....	103
Imobilização de enzimas .....	107
Lipases e celulases: definição, estrutura, produção e imobilização para fins agroenergéticos .....	108
Lipases .....	108
Celulases .....	113
Considerações finais .....	119
Referências .....	121

**ESTABILIZAÇÃO DE ENZIMAS PARA O DESENVOLVIMENTO  
DE FORMULAÇÕES LÍQUIDAS ..... 127**

Introdução .....	127
Estabilização e desnaturação de enzimas .....	128
Técnicas de estabilização de enzimas em formulações solúveis .....	131
Uso de aditivos .....	131

Ligantes .....	131
Sais .....	131
Polióis .....	132
Polietilenoglicol e outros polímeros solúveis.....	133
Uso de enzimas de extremófilos.....	134
Expressão de enzimas extremófilas em microrganismos mesófilos.....	136
Estabilização de enzimas por modificações estruturais .....	136
Reticulação por agentes bifuncionais.....	136
Acoplamento de polissacarídeos .....	138
Considerações finais .....	138
Referências .....	139

## **CATÁLISE ENZIMÁTICA PARA DESCONSTRUÇÃO DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA ..... 145**

Introdução .....	145
Estrutura da biomassa lignocelulósica.....	146
Parede celular vegetal .....	146
Celulose.....	147
Hemicelulose .....	148
Lignina .....	148
Interação polissacarídeos-lignina .....	149
Estrutura e propriedade de enzimas que degradam materiais lignocelulósicos.....	150
Estruturas das enzimas .....	150
A estrutura modular de celulasas e hemicelulasas .....	151
Módulo de ligação ao substrato.....	151
Domínio catalítico.....	152
Peptídeo flexível.....	153
A estrutura de celobiasas .....	154
Propriedades de enzimas capazes de degradar biomassa .....	155
Efeito da temperatura e pH no desempenho de enzimas.....	155
Estabilidade .....	155
Especificidade .....	157
Inibidores .....	157
Massa molecular .....	157



Função de diferentes enzimas na desconstrução de biomassas lignocelulósicas.....	159
Celulases .....	159
Endocelulases .....	160
Exocelulases .....	160
Celobiasas .....	160
Hemicelulases .....	160
$\beta$ -1,4-endoxilânase .....	161
$\beta$ -1,4-xilosidase .....	161
Xiloglicanases (xiloglicana endo- $\beta$ -1,4-glicanase) .....	161
$\beta$ -1,4-glicosidase .....	161
$\beta$ -1,4-endomananase.....	161
$\beta$ -1,4-manosidase.....	161
Proteínas acessórias .....	161
Ligninases .....	162
Lignina peroxidase .....	162
Manganês peroxidase .....	163
Peroxidases versáteis .....	163
Lacases.....	163
Modo de ação de enzimas que degradam biomassas .....	164
Hidrólise de celulose .....	164
Hidrólise de hemicelulose .....	165
Degradação de lignina.....	165
Desafios na hidrólise enzimática de biomassa .....	166
Efeito de pré-tratamento na hidrólise enzimática .....	167
Fatores que afetam a eficácia da ação enzimática .....	169
Desconstrução da celulose.....	170
Desconstrução de hemicelulose.....	171
Desconstrução de lignina .....	171
Avanços no processo enzimático de desconstrução de biomassa.....	172
Alterações no processo .....	172
Adaptações de enzimas .....	173
Considerações finais .....	174
Referências .....	175

<b>MICROORGANISMOS PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL: FERMENTAÇÃO DE PENTOSE E HEXOSES .....</b>	<b>189</b>
Introdução .....	189
Engenharia metabólica e os desafios para os microrganismos produtores de etanol celulósico .....	191
Microrganismos hidrolíticos com ampla capacidade de utilização de substratos.....	193
Bactérias Termofílicas.....	193
Fungos filamentosos .....	194
Microrganismos com ampla capacidade de utilização de substratos mas baixo rendimento de etanol.....	194
<i>Escherichia coli</i> .....	194
Leveduras naturalmente fermentadoras de pentose .....	195
Microrganismos com alto rendimento de etanol, porém com restrita utilização de substratos.....	197
<i>Zymomonas mobilis</i> .....	197
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	199
Microrganismos utilizados em escala piloto .....	200
Considerações finais .....	202
Referências.....	204
 <b>PRODUÇÃO DE ETANOL.....</b>	 <b>213</b>
Introdução .....	213
Caracterização do mercado atual de etanol .....	213
Mundo.....	214
Brasil.....	214
Matérias-primas para produção de etanol .....	215
Etanol de matérias-primas convencionais .....	217
Etanol de cana-de-açúcar .....	217
Corte, transporte, amostragem e lavagem.....	218
Preparo da cana-de-açúcar.....	219
Extração do caldo .....	219
Tratamento do caldo.....	220
Preparo do mosto.....	221
Processo fermentativo .....	222
Microrganismos utilizados .....	222

Preparo de inóculo.....	223
Bioquímica da fermentação alcoólica.....	223
Necessidades nutricionais.....	224
Fases da fermentação.....	225
Controle de contaminações.....	225
Produtos secundários.....	227
Condução da fermentação.....	228
Separação do fermento.....	229
Separação do Etanol.....	230
Geração de vapor e energia.....	231
Inovações tecnológicas.....	231
Etanol de milho.....	232
Etanol de outras matérias-primas.....	233
Etanol de matérias-primas lignocelulósicas.....	234
Seleção da biomassa.....	235
Pré-tratamento da biomassa lignocelulósica.....	236
Hidrólise enzimática dos carboidratos.....	237
Aproveitamento de pentoses.....	241
Desenvolvimento de estratégias de fermentação.....	241
Fermentação em Cocultura (CF).....	242
Fermentação Sequencial (SF).....	243
Sacarificação e Fermentação Simultâneas (SSF).....	243
Bioprocesso Consolidado (CBP).....	244
Iniciativas de industrialização.....	245
Considerações finais.....	246
Referências.....	248
<b>PRODUÇÃO DE BIODIESEL POR CATÁLISE ENZIMÁTICA.....</b>	<b>257</b>
Introdução.....	257
Mercado atual do biodiesel.....	258
Cenário mundial.....	258
Cenário brasileiro.....	259
Usinas: capacidade instalada e distribuição geográfica.....	260
Matérias-primas para produção de biodiesel.....	261

Descrição do processo atual.....	261
Problemas da catálise alcalina.....	263
Catálise enzimática.....	263
Reatores .....	264
Lipases .....	267
Óleos e Gorduras .....	267
Álcool .....	268
Solvente .....	269
Influência da quantidade de água.....	269
Efeito do glicerol.....	270
Iniciativas de industrialização e empresas envolvidas.....	270
Considerações finais .....	270
Referências .....	272

## **MICROORGANISMOS E PROCESSOS DE PRODUÇÃO DE BIOBUTANOL .... 277**

Introdução .....	277
Fermentação acetona-butanol-etanol (ABE).....	278
Seleção de substrato para produção de biobutanol .....	280
Microrganismos na produção de biobutanol .....	282
<i>Clostridium</i> sp. ....	283
<i>Escherichia coli</i> .....	286
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	288
Inovações no processo de produção de biobutanol .....	289
Inovações no processo fermentativo .....	289
Fermentação em batelada alimentada.....	291
Fermentação contínua em dois estágios.....	291
Imobilização de células.....	291
Reator com reciclo de células por membranas .....	292
Inovações na recuperação dos produtos .....	292
Arraste por gás .....	293
Extração líquido-líquido .....	293
Extração líquido-líquido com membrana (perextração).....	294
Pervaporação.....	294
Iniciativas de industrialização .....	294

Considerações finais .....	295
Referências .....	297

**MICROALGAS PARA USO NA PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS ..... 303**

Introdução .....	303
Usos atuais de microalgas .....	304
Produção de microalgas.....	304
Necessidades nutricionais e metabolismo das microalgas .....	305
Cultivo autotrófico .....	305
Cultivo heterotrófico.....	306
Cultivo mixotrófico .....	307
Colheita e pós-colheita.....	307
Microalgas na produção de biocombustíveis líquidos .....	308
Processos termoquímicos para a produção de biocombustíveis sintéticos.....	309
Fermentação alcoólica para produção de etanol.....	310
Transesterificação de óleos para produção de biodiesel .....	311
Processos de refino de petróleo aplicados a óleos de microalgas para a produção de biocombustíveis sintéticos .....	314
Produção de hidrocarbonetos .....	315
Considerações finais .....	315
Referências .....	317

# ÍNDICE DE FIGURAS

---

<b>Figura 1.</b> Evolução da produção brasileira de etanol entre 1948 e 2011 .....	27
<b>Figura 2.</b> Representação esquemática da recombinação pelo ciclo parassexual e pelo processo de paramiose em fungos .....	55
<b>Figura 3.</b> Representação do processo de fusão de protoplastos de fungos .....	57
<b>Figura 4.</b> Ilustração esquemática mostrando como uma biblioteca metagenômica pode ser utilizada para acessar o potencial metabólico dos diversos ambientes .....	82
<b>Figura 5.</b> Açúcares que constituem a hemicelulose.....	87
<b>Figura 6.</b> Desconstrução da celulose .....	90
<b>Figura 7.</b> A. Fermentação submersa em escala de bancada. B. Fermentação no estado sólido em escala de bancada.....	105
<b>Figura 8.</b> Biorreator aerado e agitado mecanicamente .....	106
<b>Figura 9.</b> Métodos de imobilização de enzimas .....	108
<b>Figura 10.</b> Reações catalisadas por lipases .....	109
<b>Figura 11.</b> Sequência de eventos que podem levar a perda da estrutura e função de uma enzima.....	129
<b>Figura 12.</b> Séries liotrópicas de Hoffmeister.....	132
<b>Figura 13.</b> Esquema da estrutura modular de celulases e hemicelulases.....	151
<b>Figura 14.</b> Representação esquemática da ação de celulases sobre seus respectivos substratos: (A) Exocelulase agindo sobre celulose cristalina e (B) Endocelulase agindo sobre celulose amorfa.....	154
<b>Figura 15.</b> Perfil de inativação térmica de celulases e celobiase a 60 °C.....	156
<b>Figura 16.</b> Representação esquemática da desconstrução enzimática de celulose .....	164
<b>Figura 17.</b> Representação esquemática da estrutura de hemiceluloses e atuação das enzimas hemicelulolíticas .....	166
<b>Figura 18.</b> Hidrólise enzimática de <i>B. brizantha</i> submetida a dois pré-tratamentos diferentes: A) ácido (1,5% v/v) e B) ácido (1,5% v/v) seguido de alcalino (4,0% p/v).....	170
<b>Figura 19.</b> Esquema simplificado do processo de produção de etanol de biomassa lignocelulósica .....	190
<b>Figura 20.</b> Características ideais que um microrganismo deve apresentar para ser utilizado na produção de etanol de biomassa lignocelulósica .....	192
<b>Figura 21.</b> Metabolismo de hexoses e pentoses pelas vias metabólicas Enter-Doudoroff e glicólise com suas respectivas equações estequiométricas.....	198

<b>Figura 22.</b> Principais modificações gênicas feitas em <i>S. cerevisiae</i> com a finalidade de aumentar a produção de etanol a partir de glicose e xilose .....	199
<b>Figura 23.</b> Etapas para produção de etanol a partir de diferentes matérias-primas.....	216
<b>Figura 24.</b> Fluxograma de produção de etanol a partir da cana-de-açúcar .....	218
<b>Figura 25.</b> Etapas da produção bioquímica de etanol celulósico.....	235
<b>Figura 26.</b> Esquema das estratégias fermentativas para produção de etanol lignocelulósico .....	242
<b>Figura 27.</b> Distribuição regional das usinas de biodiesel no Brasil.....	260
<b>Figura 28.</b> Matérias-primas utilizadas para a produção de biodiesel no Brasil .....	261
<b>Figura 29.</b> Reação de transesterificação .....	262
<b>Figura 30.</b> Vias para a conversão microbiana de diferentes fontes de carbono em butanol.....	281
<b>Figura 31.</b> Principais produtos formados na fermentação ABE por <i>C. acetobutylicum</i> nas fases de acidogênese (azul) e solventogênese (verde) .....	284
<b>Figura 32.</b> Produtos da fermentação ABE em <i>C. acetobutylicum</i> .....	285
<b>Figura 33.</b> Expressão heteróloga de 2-ceto-ácidos decarboxilase e álcool decarboxilase em <i>E. coli</i> (via não fermentativa), resultando na produção de n-butanol e isopropanol a partir da utilização de glicose como substrato .....	288
<b>Figura 34.</b> Formas de utilização das microalgas na produção de biocombustíveis líquidos.....	309
<b>Figura 35.</b> Esquema da produção de biodiesel de microalgas .....	312

# ÍNDICE DE TABELAS

---

<b>Tabela 1.</b> Oferta interna de energia no Brasil em 2011 .....	24
<b>Tabela 2.</b> Indicadores da evolução tecnológica da indústria sucroalcooleira entre 1975 e 2008.....	29
<b>Tabela 3.</b> Principais bases de dados com informações sobre proteínas envolvidas na degradação de lipídios e de componentes da parede celular vegetal.....	43
<b>Tabela 4.</b> Proteínas microbianas semelhantes à expansinas e suas características .....	44
<b>Tabela 5.</b> Principais marcadores seletivos para transformação de fungos filamentosos .....	60
<b>Tabela 6.</b> Grupos com experiência em genética clássica e molecular de fungos produtores de enzimas lipolíticas e degradadoras de componentes da parede celular vegetal.....	63
<b>Tabela 7.</b> Líderes dos grupos de pesquisas que utilizam a metagenômica para melhoria da produção de biocombustíveis no Brasil .....	85
<b>Tabela 8.</b> Exemplos de lipases comerciais .....	111
<b>Tabela 9.</b> Números da classificação das enzimas (CE) e famílias das celulases.....	115
<b>Tabela 10.</b> Exemplos de celulases comerciais produzidas a partir de cultivo de fungos filamentosos dos gêneros <i>Aspergillus</i> e <i>Trichoderma</i> .....	117
<b>Tabela 11.</b> Efeito de agentes físicos, químicos e biológicos com seus sítios alvos e a forma desnaturada resultante .....	130
<b>Tabela 12.</b> Utilização de polímeros solúveis sobre a estabilidade de diferentes enzimas .....	133
<b>Tabela 13.</b> Microrganismos termofílicos: fonte de enzimas para processos a altas temperaturas .....	135
<b>Tabela 14.</b> Enzimas termofílicas expressas em microrganismos mesofílicos .....	137
<b>Tabela 15.</b> Propriedades de enzimas utilizadas na degradação de biomassa vegetal .....	158
<b>Tabela 16.</b> Composição percentual de resíduos lignocelulósicos agroindustriais ricos em pentoses .....	191
<b>Tabela 17.</b> Microrganismos licenciados para produção de etanol celulósico .....	201
<b>Tabela 18.</b> Características necessárias para um microrganismo ser utilizado na produção de etanol celulósico e a relativa capacidade dos microrganismos (linhagens) disponíveis atualmente.....	202
<b>Tabela 19.</b> Potencial de etanol de matérias-primas sacarinas e amiláceas .....	217



<b>Tabela 20.</b> Métodos físicos e biológicos de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica.....	238
<b>Tabela 21.</b> Métodos físico-químicos de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica.....	239
<b>Tabela 22.</b> Métodos químicos de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica.....	239
<b>Tabela 23.</b> Iniciativas selecionadas na produção de etanol de biomassa celulósica.....	245
<b>Tabela 24.</b> Comparação entre o processo enzimático e o processo alcalino convencional para a produção de biodiesel.....	264
<b>Tabela 25.</b> Exemplos de estudos de síntese de biodiesel em escala de bancada utilizando lipases em reatores de batelada do tipo tanque.....	265
<b>Tabela 26.</b> Exemplos de estudos de síntese de biodiesel em escala de bancada utilizando lipases em reatores de leito fixo .....	266
<b>Tabela 27.</b> Propriedades dos isômeros de butanol .....	278
<b>Tabela 28.</b> Técnicas de fermentação utilizadas na fermentação ABE para aumento da produtividade .....	290
<b>Tabela 29.</b> Técnicas de extração de solventes na fermentação ABE .....	293
<b>Tabela 30.</b> Empresas produtoras de biobutanol por rota microbiana.....	295
<b>Tabela 31.</b> Trabalhos feitos por rotas termoquímicas usando microalgas para produção de biocombustíveis .....	310
<b>Tabela 32.</b> Conteúdo de óleo em algumas microalgas .....	311

# BIOCOMBUSTÍVEIS LÍQUIDOS PRODUZIDOS POR MICRORGANISMOS

José Manuel Cabral de Sousa Dias

## INTRODUÇÃO

A partir da assinatura do Protocolo de Kyoto (discutido e negociado em 1997, com efetiva aplicação a partir de 2005), o mundo passou a considerar a possibilidade da substituição gradual das fontes não renováveis de energia (petróleo, gás natural, carvão mineral e urânio) por fontes renováveis como a hidroelétrica, a solar, a eólica, a geotérmica, a maremotriz e a proveniente da biomassa.

No Brasil, o Governo Federal promulgou a Lei 12.187, de 29 de dezembro de 2009, criando a Política Nacional sobre Mudança do Clima (PNMC), em que se compromete com a redução dos gases causadores do efeito estufa (GEE) de 36,1% até 38,9% em relação às previsões de emissões no Brasil em 2020.

As principais medidas de mitigação de emissões e para estabilizar as concentrações de GEE, são considerados:

- o aumento da participação energética associada à energia proveniente de fontes renováveis;
- o incremento da eficiência na geração de energia, por meio da utilização de novas tecnologias e da adoção de medidas de conservação de energia;
- a captura e armazenamento de CO<sub>2</sub>.

Dentre os países de maior expressão econômica, o Brasil, está na vanguarda da utilização das fontes renováveis de energia. Enquanto a média mundial de utilização desse tipo de fonte era de 16,7% em 2010 (REN21, 2012), o Brasil alcançou, em 2011, a expressiva porcentagem de 44,1% de utilização de fontes renováveis na Matriz Energética Brasileira (BRASIL, 2012).

Como está detalhado na Tabela 1, a biomassa foi responsável pela oferta de mais de 30% de toda a energia utilizada no Brasil em 2011, sendo a cana-de-açúcar a principal fornecedora, quer gerando energia elétrica a partir do bagaço, quer produzindo etanol anidro para ser misturado à gasolina ou etanol hidratado para substituí-la nos veículos *flex-fuel*. A cana-de-açúcar, em 2011, forneceu mais energia ao Brasil do que toda a geração elétrica, feita por hidroelétricas. Considerando que a energia do óleo diesel respondeu por 19% da energia consumida no país (EPE, 2012), que nesse combustível havia 5% de biodiesel renovável e que a lixívia (também renovável) proveniente da fabricação de papel e celulose foi responsável por 2,1% da energia consumida no país, chega-se à conclusão de que as fontes renováveis provenientes da biomassa forneceram 28,5% da energia nacional em 2011 (BRASIL, 2012).