

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

RAFAEL CUNHA DE ASSIS CASTRO

Produção de etanol a partir da palha de arroz por sacarificação e fermentação simultânea empregando um reator agitado não convencional

Lorena
2016

RAFAEL CUNHA DE ASSIS CASTRO

Produção de etanol a partir da palha de arroz por sacarificação e fermentação simultânea empregando um reator agitado não convencional

Tese apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na área de Conversão de biomassa.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Inês Conceição Roberto

Versão Original

Lorena
2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTA TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Castro, Rafael Cunha de Assis

Produção de etanol a partir da palha de arroz por sacarificação e fermentação simultânea empregando um reator agitado não convencional / Rafael Cunha de Assis Castro; orientadora Inês Conceição Roberto - Versão Original. - Lorena, 2016.

223 p.

Tese (Doutorado em Ciências - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2016
Orientadora: Inês Conceição Roberto

1. Etanol. 2. Palha de arroz. 3. Desacetilação. 4. Reator não convencional. 5. Análise técnico econômica. I. Título. II. Roberto, Inês Conceição, orient.

Dedico este trabalho aos meus pais, Paulo Sérgio e Solange, e à minha esposa Raquel

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo e de todos, agradeço a Deus por me capacitar a concluir este trabalho, pelo cuidado nos detalhes e por abrir as portas sempre nos momentos certos.

À Prof^ª. Dr^ª. Inês Conceição Roberto, pela orientação sempre presente, pelos conselhos e pela confiança em meu trabalho.

Aos meus pais Paulo Sérgio e Solange, pelo amor incondicional, carinho, apoio, orações e incentivo constante.

À minha esposa Raquel, pelo incentivo e compreensão nos momentos distantes, mas que nos prepararam para agora estarmos finalmente juntos.

À nossa sobrinha Maria Alice, que nos proporciona momentos tão felizes.

Aos meus sogros, Paulo e Alice, pelo apoio espiritual e gastronômico, e por me acolherem como um filho.

Aos amigos do laboratório, Bruno Guedes, Hilton Túlio e Isabela Ferreira, que estiveram comigo durante a maior parte da realização deste doutorado.

Aos amigos que também fizeram e fazem parte do nosso laboratório, Daniela Cortez, João Paulo, Lívia, Daniely Garcia, Bárbara, Isabela Zeferino, Tanus, Tathiane, Lina, Daiana, Alana, Izabela Maciel e Marcela.

Aos amigos dos demais laboratórios: Germano, Daniele, Celso, Victor, Felipe, Omar, Thales, Flávio, Kelly, Naila, Rafael Candido, Larissa e Fernanda Valadares, pelos momentos de confraternização e amizade.

A todos os funcionários do Departamento de Biotecnologia, em especial ao Paulinho, Zé Cobrinha, Zé Moreira, André, Nadir, Walkiria e Isnaldi por estarem sempre prontos a ajudar.

À Dra. Solange Mussatto, pela orientação, ensinamentos e pelo apoio fundamental para o período de estágio na Delft University of Technology

À família Savegnago, Donizete, Luciana e Gabriel, que me receberam em Den Haag de maneira tão especial.

Aos meus primos Túlio, Maria Luiza, Juju, Pedro e Bim, por serem meus verdadeiros irmãos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de doutorado e de estágio de pesquisa no exterior concedidas (Processos 2013/13953-6 e 2015/20510-9) para o financiamento deste projeto.

“A sabedoria da natureza é tal que não produz nada de supérfluo ou inútil”

Nicolau Copérnico

RESUMO

CASTRO, R. C. A. **Produção de etanol a partir da palha de arroz por sacarificação e fermentação simultânea empregando um reator agitado não convencional.** 2016. 223 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena - SP, 2016.

O presente trabalho teve como principal objetivo estudar o processo de produção de etanol por sacarificação e fermentação simultânea (SSF) a partir da palha de arroz em um reator agitado não convencional, denominado Moinho de Bolas Vertical (MBV). Foi também objetivo deste trabalho realizar uma avaliação técnico-econômica a partir dos resultados experimentais alcançados durante o processamento da biomassa, aplicando o conceito de biorrefinaria. Inicialmente, foi avaliada uma sequência de pré-tratamentos da palha de arroz que consistiu de uma etapa de desacetilação alcalina, seguido de hidrólise com ácido diluído. Os efeitos destes pré-tratamentos foram analisados com base nas modificações estruturais da palha de arroz e no rendimento de conversão de celulose (RCC) em cada sólido obtido. Com base nos resultados, foram definidas as condições ótimas para a etapa de desacetilação (80 mg de NaOH/g de palha *in natura*, 70 °C, 45 min), de hidrólise ácida (100 mg de H₂SO₄/g de palha desacetilada, 121 °C, 85 min) e carga de enzimas (21,5FPU e 26,5 UI de β-glicosidase/g de celulose). Nestas condições, foram conduzidos experimentos em reator MBV visando avaliar o efeito das da velocidade de agitação (100 a 200 rpm), número de esferas (0 a 30) e temperatura (40 a 46 °C) sobre o RCC na sacarificação da celulignina desacetilada e sobre a eficiência da fermentação por *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-6860 em meio semissintético. Após definição das variáveis significativas aos processos, foram realizados experimentos em reator MBV na configuração de SSF em batelada simples e alimentada. Em batelada simples com 8% de sólidos, foi obtida uma concentração de etanol de 23,1 g/L, com eficiência (η) de 89,8% e produtividade volumétrica (Q_P) de 1,6 g/L.h, nas seguintes condições operacionais: 200 rpm, 18 esferas e 41,5 °C. No entanto, com o aumento do teor de sólidos para 24%, ambos os parâmetros (η e Q_P) foram reduzidos em 50%. Visando melhorar os parâmetros do processo com 24% de sólidos, foram realizados ensaios em batelada alimentada e na melhor estratégia de alimentação do substrato foi produzido 52,3 g/L de etanol (η = 67,5% e Q_P = 1,1 g/L.h). As frações ricas em lignina geradas a partir do licor alcalino e do resíduo de fermentação da batelada alimentada foram caracterizadas físico-quimicamente, e analisadas quanto ao potencial antioxidante. A partir dos resultados, foram sugeridas possíveis aplicações para estes dois resíduos ricos em lignina. Finalmente, de posse do balanço de massa de cada etapa do processamento da palha de arroz, foi realizada uma análise técnico-econômica empregando o *software* SuperPro Designer. As simulações mostraram que, para todos os cenários avaliados, a etapa de pré-tratamento ácido foi a de maior impacto sobre os custos operacionais, seguido pelas etapas de fermentação (xilose e glicose). Ficou demonstrado ainda que, a conversão de xilose em xilitol proporcionou um melhor retorno financeiro do que a conversão desta pentose em etanol. Para a viabilidade econômica da presente proposta de biorrefinaria, além da diversificação dos produtos obtidos a partir das frações açucaradas, é de fundamental importância explorar as potencialidades dos resíduos ricos em lignina.

Palavras-chave: Etanol; Palha de arroz; Desacetilação; Reator não convencional; Análise técnico-econômica.

ABSTRACT

CASTRO, R. C. A. **Ethanol production from rice straw by simultaneous saccharification and fermentation employing a non-conventional stirred reactor.** 2016. 223 p. Thesis (Doctor of Science) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena - SP, 2016.

The aim of this work was to study the ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from rice straw in a non-conventional agitated reactor, called Vertical Ball Mill (VBM). It was also objective of this study to perform a techno-economic analysis from the experimental results achieved during the biomass processing, using the biorefinery concept. Initially, the rice straw was submitted to a sequential pretreatment consisting of an alkaline step (deacetylation) followed by dilute acid hydrolysis. The pretreatment effects were evaluated based on rice straw's structural modifications and regarding cellulose conversion (CC) from each obtained solid. Based on the results were defined the best conditions for the deacetylation step (80 mg NaOH/g of rice straw *in natura*, 70 °C, 45 min), acid hydrolysis (100 mg H₂SO₄/g deacetylated straw 121 °C, 85 min) and enzyme loading (21.5 FPU and 26.5 IU β-glucosidase/g cellulose). Under these conditions, assays were carried out in VBM reactor to evaluate the effect of stirring speed (100-200 rpm), number of spheres (0-30) and temperature (40-46°C) on saccharification of deacetylated cellulignin and fermentation efficiency by *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-6860 in semisynthetic media. After defining the significant variables, experiments were carried out in VBM reactor by SSF configuration in batch and fed-batch operational modes. In batch SSF at 8% solids, was obtained an ethanol concentration of 23.1 g/L, with a process efficiency (η) of 89.8%, and volumetric productivity (Q_P) of 1.6 g /L.h, in the following operating conditions: 200 rpm, 18 spheres and 41.5 °C. However, by increasing solids content to 24%, both parameters (η and Q_P) were decreased by 50%. In order to improve the process parameters to 24% solids, fed-batch experiments were performed. In the best substrate feeding policy was produced 52.3 g/L ethanol (η = 67,5%) in 48-h process (Q_P = 1.1 g/L.h). The lignin-rich fractions from the alkaline liquor and from fed-batch fermentation residue were characterized regarding its chemical composition and physical properties and analyzed for antioxidant activity. Based on these results were suggested possible applications for both lignin-rich residues. Finally, considering the mass balance from all rice straw processing steps, a techno-economic analysis was assessed using SuperPro Designer software. The simulation procedures have indicated that, for all evaluated scenarios, the acid pretreatment step had the highest impact on operating costs, followed by the fermentation steps (xylose and glucose). It was also shown that xylose conversion into xylitol provided a better payback rather than its conversion into ethanol. Therefore, to attain a viable and profitable process for this type of rice straw based biorefinery, in addition to the diversification of products obtained from the sugary fractions, it is crucial to explore the potential of lignin-rich streams.

Keywords: Ethanol; Rice straw; Deacetylation; Non-conventional reactor; Techno-economic analysis.