



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA



Biorrefinarias para a produção de 2,3-butanodiol

Autor: Izabella Zobot Assis

Orientadora: Profa. Dra. Daniele Misturini Rossi

Porto Alegre, novembro de 2020

Autor: Izabella Zobot Assis

Biorrefinarias para a produção de 2,3-butanodiol

*Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
COMGRAD/ENQ da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Bacharel em Engenharia
Química*

Orientadora: Profa. Dra. Daniele Misturini Rossi

Banca Examinadora:

Doutora, Caroline Borges Agustini, DEQUI - UFRGS

Mestre, Laura Jensen Ourique, UFRGS

Porto Alegre

2020

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer aos meus pais, Raquel e Bismarck, por todo o amor, apoio, dedicação e esforços que fizeram e ainda fazem para que eu alcance meus objetivos e seja feliz. Tenho muita sorte em tê-los em minha vida. Amo muito vocês.

Aos meus familiares, agradeço por sempre torcerem pelo meu sucesso, em especial à minha tia Rejane, ao meu tio Darci, ao meu irmão Marco Antonio e à minha querida avó Soeli que hoje, com certeza, está comemorando esta alegria comigo de um lugar melhor e mais feliz.

Ao meu namorado, Arthur, pelo amor, incentivo e companheirismo em todos os momentos.

À minha sogra, Denise, pelo apoio e carinho de sempre.

À UFRGS, pela formação ímpar proporcionada e a todos os professores que fizeram parte da minha trajetória.

À minha orientadora Daniele, pela dedicação e oportunidade de realizar este trabalho sob sua supervisão.

Aos bons amigos que fiz durante a graduação, pela amizade e alegrias compartilhadas nessa longa caminhada de curso. Em especial à Gabi e à Tainara, que enfrentaram de perto e junto comigo esta última etapa. Deu certo, gurias!

RESUMO

Os sistemas de biorrefinarias que integram processos de conversão de biomassa para a produção de combustíveis, energia e produtos químicos a partir de recursos renováveis estão cada vez mais ganhando espaço no desenvolvimento industrial, devido a crescente busca por inovação e sustentabilidade de processos, visto à menor disponibilidade de combustíveis fósseis no decorrer dos últimos anos. Tanto biomassas não-celulósicas como as lignocelulósicas são resíduos energéticos com vasta abundância e baixo custo no mercado, o que as torna atrativas fontes de carbono para as indústrias de produtos químicos e energéticos, como o 2,3-butanodiol (2,3-BD). O 2,3-BD é considerado um produto químico e combustível promissor devido às suas extensas aplicações na indústria, sendo bem-conceituado para produção a partir de processos de conversão biotecnológica, utilizando fontes de carbono alternativas. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi realizar uma pesquisa literária baseada no conceito de biorrefinarias voltadas a produção de 2,3-BD. Neste trabalho, foi feita uma pesquisa sistemática da literatura, onde foram consultados 63 artigos, 14 teses, 4 livros e 3 relatórios, a fim de revisar o desenvolvimento geral de processos produtivos de biorrefinaria, incluindo os substratos utilizados, as rotas de conversão empregadas e os produtos que podem ser obtidos nesse procedimento, com enfoque no 2,3-BD. Estratégias para sua produção biotecnológica eficiente foram analisadas com base no processo fermentativo de microrganismos capazes de sintetizar o 2,3-BD a partir de diferentes substratos empregados, através de uma revisão delineada da rota metabólica aplicada, dos diversos microrganismos capazes de sintetizá-lo e das condições de operação necessárias para sua produção eficiente. Esta revisão também abrange as distintas estratégias aplicadas para a recuperação e purificação de 2,3-BD, pois, atualmente, o processamento *downstream* é uma das principais barreiras para a sua fermentação industrial eficiente e econômica. Embora esse processamento ainda não seja totalmente otimizado, há grande potencial para tornar-se uma alternativa atraente e economicamente viável. Assim, também foram revisadas validações econômicas atuais encontradas de processos integrados de destilação, principal método vigente para a purificação de 2,3-BD em larga escala, avaliando os custos de operação e de equipamentos de diferentes esquemas propostos, a fim de serem obtidos projetos energeticamente eficientes capazes de suprir a desvantagem do consumo excessivo de energia.

Palavras-chave: *biorrefinaria, 2,3-butanodiol, fermentação, recuperação de 2,3-butanodiol*

ABSTRACT

Biorefinery systems that integrate biomass conversion processes for the production of fuels, energy and chemicals from renewable resources are increasingly gaining ground in industrial development, due to the growing search for innovation and process sustainability, given the lower availability of fossil fuels over the past few years. Both non-cellulosic and lignocellulosic biomass are energy residues with vast abundance and low cost in the market, making them attractive sources of carbon for the chemical and energy industries, such as 2,3-butanediol (2,3-BD). 2,3-BD is considered a promising chemical and fuel product due to its extensive applications in the industry, being well-regarded for production from biotechnological conversion processes, using alternative carbon sources. Thus, the objective of this work was to carry out a literary research based on the concept of biorefineries aimed at the production of 2,3-BD. In this work, a systematic literature search was carried out, in which 63 articles, 14 theses, 4 books and 3 reports were consulted, in order to review the general development of biorefinery production processes, including the substrates used, the conversion routes employed and the products that can be obtained in this procedure, focusing on 2,3-BD. Strategies for its efficient biotechnological production were analyzed based on the fermentation process of microorganisms capable of synthesizing 2,3-BD from different substrates used, through a delineated review of the applied metabolic route, of the various microorganisms capable of synthesizing it and operating conditions necessary for its efficient production. This review also covers the different strategies applied for the recovery and purification of 2,3-BD, as, currently, downstream processing is one of the main barriers to its efficient and economical industrial fermentation. Although this processing is not yet fully optimized, there is great potential to become an attractive and economically viable alternative. Thus, current economic validations found for integrated distillation processes were also reviewed, the main current method for the large-scale purification of 2,3-BD, evaluating the operation and equipment costs of different proposed schemes, in order to obtain projects energy efficient systems capable of overcoming the disadvantage of excessive energy consumption.

Keywords: *biorefinery, 2,3-butanediol, fermentation, 2,3-butanediol recovery*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de cadeia de processo básico de uma biorrefinaria.	5
Figura 2. Estrutura celular da biomassa lignocelulósica.	10
Figura 3. Esquema do processo completo de produção e recuperação de 2,3-BD.	13
Figura 4. Exemplos de aplicação do 2,3-BD.	14
Figura 5. Via de fermentação ácido-mista para a produção de 2,3-BD sob condições anaeróbias ou com limitação de oxigênio.	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise por composição de diferentes biomassas lignocelulósicas.	8
Tabela 2. Produção de 2,3-BD a partir de diferentes microrganismos, biomassas e condições de processo.	21
Tabela 3. Técnicas de separação e recuperação de 2,3-BD.	31
Tabela 4. Comparação econômica das configurações propostas versus o caso base.	33
Tabela 5. Comparações econômicas dos esquemas propostos versus o caso base.	34
Tabela 6. Especificações de projeto com resultados otimizados de todas as configurações propostas.	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2,3-BD	2,3-butanodiol
pH	Potencial Hidrogeniônico
sp.	Espécies (Referência a várias espécies de um gênero)
ATP	Trifosfato de Adenosina
ADP	Difosfato de Adenosina
NAD	Nicotinamida-Adenina Dinucleótido
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
USD/kg	Dólares por quilograma
PEG	Polietileno glicol
IC	Integração de calor
CAT	Custo anual total
GRAS	Geralmente reconhecido como seguro
OMS	Organização Mundial da Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS

D-(-)-	Isômero Dextrógiro
L-(+)-	Isômero Levógiro
g	Gramma
mg	Miligramma
L	Litro
mL	Mililitro
h	Hora
s	Segundo
CO	Monóxido de carbono
CO ₂	Gás carbônico
H ₂ O	Água
CH ₄	Gás metano
N ₂ O	Óxido nitroso

SUMÁRIO

1	Introdução	1
1.1	Objetivos gerais e específicos	2
2	Metodologia	3
3	Revisão Bibliográfica	4
3.1	Biorrefinarias	4
3.1.1	Resíduos de biomassas utilizadas como substrato	5
3.1.1.1	Biomassa não-celulósica	6
3.1.1.2	Biomassa lignocelulósica	7
3.1.2	Rotas de conversão	10
3.1.2.1	Rota química	10
3.1.2.1	Rota termoquímica	11
3.1.2.2	Rota biológica	12
3.2	Biorrefinarias para a produção de 2,3-butanodiol	13
3.2.1	O 2,3-butanodiol	13
3.2.2	Microrganismos produtores de 2,3-butanodiol	15
3.2.3	Rota metabólica do 2,3-butanodiol a partir da glicose	17
3.2.4	Condições de operação	18
3.2.5	Biomassas como substrato	20
3.2.5.1	Bagaço e melaço da cana-de-açúcar	23
3.2.5.2	Casca de soja	23
3.2.5.3	Palha e sabugo de milho	24
3.2.5.4	Casca e palha de arroz	24
3.2.5.5	Glicerol	25
3.2.5.6	Resíduos alimentares	25
3.2.5.7	Outros substratos	26
3.2.6	Recuperação e purificação de 2,3-butanodiol	26
3.2.6.1	Métodos integrados de destilação para a recuperação de 2,3-BD e validação econômica do processo	31
4	Conclusões e Trabalhos Futuros	36
5	Referências bibliográficas	37

1 Introdução

A instabilidade no preço do petróleo, juntamente com sua progressiva escassez, vem causando consequências impactantes tanto a nível ambiental, quanto econômico e social em todo o planeta. Devido a essa preocupação, medidas consideradas promissoras estão sendo tomadas e desenvolvidas com o intuito de amenizar esses impactos causados e ampliar o uso de técnicas mais limpas e sustentáveis. Assim, surge o conceito de biorrefinaria, que vem sendo amplamente empregada para a síntese de bio-produtos como substitutos renováveis de seus equivalentes derivados do petróleo.

Como uma biorrefinaria pode ser constituída de múltiplos processos e produtos variados, quem determina a melhor rota tecnológica e a matéria-prima ideal para o processo é o produto desejado, que engloba produtos químicos, energia e também combustíveis. Nesse contexto, a produção biotecnológica de 2,3-BD em biorrefinarias vem se destacando e recebendo atenção devido às suas aplicações industriais multifacetadas. Porém, apesar de promissor, o principal desafio deste processo encontra-se na etapa de recuperação e purificação em larga escala do 2,3-BD do caldo de fermentação. Devido ao seu ponto de ebulição mais elevado que o da água, esse processo requer grande necessidade de energia e de água para que esse álcool seja recuperado em grandes quantidades. Existem diversos métodos capazes de resultar em recuperações eficientes, como por exemplo, métodos de pervaporação, extração *salting out*, extração por solvente, separação por membranas, destilação, entre outros, porém, muitos ainda apresentam limitações e desvantagens que tornam o processo desvantajoso e custoso, pois geram excessivos gastos energéticos na sua demanda.

Em uma biorrefinaria, o uso de matéria-prima sustentável derivada de biomassa é priorizado para a síntese de produtos a partir de rotas de conversão, geralmente classificadas como rotas químicas, biológicas ou termoquímicas. A fermentação é a rota biológica que tem sido mais frequentemente utilizada nesses processos, especialmente porque diferentes microrganismos, como fungos e, principalmente bactérias do gênero *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Bacillus*, são capazes de converter açúcares derivados de biomassa em produtos químicos e combustíveis em, geralmente, condições de baixo custo de operação, necessidade de energia, utilização de água e geração de resíduos. Porém, apesar de eficaz, seu processamento em escala comercial ainda é bastante limitado, devido, principalmente, a necessidade de grande área de espaço físico e manutenção de condições assépticas para o crescimento microbiano.

A biomassa necessária para o processo, pode ser obtida de qualquer matéria orgânica, de origem animal ou vegetal, e ao ser decomposta, torna-se um interessante insumo devido à sua rica composição em carbono, vasta disponibilidade e baixo preço de mercado. Atualmente, a escolha por biomassas não alimentares tem se tornado a melhor opção em detrimento de biomassas derivadas de alimentos comestíveis, pois elas não competem com indústrias de alimentos e rações pela obtenção da mesma matéria-prima e terras férteis, fazendo com que impactos econômicos, sociais e ambientais não sejam principiados por essa ação. Assim, diferentes resíduos, tanto não-celulósicos quanto lignocelulósicos, são utilizados como substrato, como por exemplo, resíduos agrícolas, alimentares, industriais, entre outros.

1.1 Objetivos gerais e específicos

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo geral revisar o estudo de biorrefinarias com enfoque na produção de 2,3-BD, a partir da fermentação microbiana de açúcares derivados de diferentes resíduos de biomassas.

Os objetivos específicos foram:

- Investigar a capacidade de produção de 2,3-BD por diferentes tipos de biomassas e microrganismos utilizados, e suas condições de operação necessárias.
- Revisar os principais métodos de recuperação e purificação do 2,3-BD, contemplando especialmente os métodos integrados de destilação que são os mais utilizados atualmente.
- Validar economicamente a viabilidade desses métodos para a produção do 2,3-BD em larga escala.

2 Metodologia

Esta revisão sistemática da literatura foi baseada em uma pesquisa bibliográfica feita principalmente com base no banco de dados dos sites Science Direct e Google Acadêmico.

Os termos de pesquisa usados como consulta foram: biorrefinarias, 2,3-butanodiol, produção de 2,3-butanodiol, biomassa lignocelulósica, recuperação de 2,3-butanodiol, destilação. O período de tempo foi definido de 2004 até o presente, porém priorizou-se a busca por pesquisas mais atuais. Foram pesquisados 63 artigos, 14 teses, 4 livros e 3 relatórios.

Os resultados da consulta foram selecionados por meio da análise de título e resumo, resultando em uma amostra de 34 artigos, teses e livros relacionados a produção biotecnológica de 2,3-butanodiol, 18 artigos e livros relacionados ao desenvolvimento de biorrefinarias, 12 artigos e teses sobre a recuperação e purificação de 2,3-BD e 20 artigos, relatórios e teses relacionadas ao assunto.

De acordo com esta pesquisa sistemática da literatura, o tópico 3.1 cobriu uma visão geral dos conceitos e desenvolvimento de uma biorrefinaria, mostrando os principais resíduos utilizados como substrato, além das rotas de conversão possíveis para a geração de produtos químicos e combustíveis, onde o foco desse estudo concentrou-se na produção biotecnológica de 2,3-BD a partir de biomassas. Já o tópico 3.2 explicitou o processo produtivo de 2,3-BD em biorrefinarias, caracterizando suas principais aplicações no mercado, os principais substratos utilizados, rota de conversão e microrganismos apropriados para sua produção biotecnológica. Por fim, métodos empregados para a recuperação do 2,3-BD de caldos fermentativos foram mencionados e uma validação econômica de métodos integrados de destilação, método mais utilizado atualmente, foi revisada a fim de abordar sua eficiente aplicabilidade para a redução do consumo de energia nesses processos.

3 Revisão Bibliográfica

3.1 Biorrefinarias

A necessidade de uma nova perspectiva de indústria com relação a produção de combustíveis e diferentes produtos químicos surgiu em decorrência da crescente demanda e dependência mundial por combustíveis fósseis, em especial o petróleo e seus derivados (SANTOS *et al.*, 2018). Tal necessidade tem gerado cada vez mais preocupação e problemas ambientais, econômicos e sociais adversos. Nesse sentido, a busca por tecnologias baseadas em recursos renováveis vem ganhando notoriedade ao longo dos anos, e o conceito de biorrefinaria vem sendo empregado como uma alternativa mais sustentável (PALMEROS PARADA; OSSEWEIJER; POSADA DUQUE, 2017).

O termo biorrefinaria é amplamente discutido e várias definições diferentes foram criadas a fim de explorar mais sua identidade. Seu conceito compara-se às refinarias petrolíferas, onde são obtidos diferentes tipos de produtos químicos e combustíveis a partir do petróleo bruto (FUESS, 2017). Em termos gerais, o conceito de biorrefinaria visa a conversão de biomassa em uma ampla gama de produtos, desde biocombustíveis, bioenergia e até produtos químicos especiais (BORGES, 2020). Além disso, há um consenso geral de que o conceito de biorrefinaria engloba vários tipos de matérias-primas de biomassas e processos de conversão para produzir produtos intermediários e finais (ANTIKAINEN *et al.*, 2017).

Além disso, dois objetivos principais caracterizam o conceito de biorrefinaria. O primeiro deles visa a substituição de matérias-primas de origem fóssil por biomassa, sobretudo, a fim de minimizar a emissão de gases de efeito estufa na atmosfera, como CO₂ (dióxido de carbono), CH₄ (metano) e N₂O (óxido nitroso). O segundo, visa agregar valor a esses resíduos de biomassa produzindo combustíveis e produtos químicos diversos (BORGES, 2020), contribuindo assim, para o anseio de uma economia de base biológica e oportunidades mais sustentáveis e menos prejudiciais ao planeta.

Uma cadeia de processo básico de biorrefinaria para a conversão de biomassa em combustível, energia e produtos químicos, empregando rotas de conversão, é apresentada na Figura 1. Como comentado anteriormente, uma biorrefinaria pode ser constituída de múltiplos processos e produtos variados, logo, na maioria dos casos, o produto desejado irá determinar a melhor rota tecnológica e a matéria-prima mais apropriada para o processo (NIZAMI *et al.*, 2017).

Dependendo do produto principal desejado, o sistema de biorrefinaria pode ser denominado como biorrefinaria movida a energia ou biorrefinaria movida a produto (YAMAKAWA; QIN; MUSSATTO, 2018). O principal foco das biorrefinarias atualmente, é a biorrefinaria movida a energia, na qual visa a produção de bioenergia e biocombustíveis, que apesar de representarem baixo valor agregado e alto volume, se destacam para a utilização em setores da indústria e do transporte. Segundo Hazeena *et al.* (2020) há projeções de que o consumo de energia aumentará em 48% de 2012 a 2040.

A energia produzida a partir de uma biorrefinaria ajuda na redução de custos, enquanto biocombustíveis visam atender à demanda global energética necessária. A preferência por

produtos combustíveis se dá, sobretudo, devido ao alto preço do petróleo bruto no mercado e ao alto nível tecnológico desenvolvido nessas biorrefinarias, o que facilita a estimativa de custos, pois valores reais estão disponíveis para o escalonamento e validação dos resultados (CRISTÓBAL *et al.*, 2018). Exemplos de produtos energéticos são: etanol (YAMAKAWA; QIN; MUSSATTO, 2018), biodiesel, biogás, singás, hidrogênio, bio-óleo (RODRIGUES, 2011) e como aditivo de combustível o 2,3-BD (HAZEENA *et al.*, 2020).

Já biorrefinarias voltadas para produtos, como produtos químicos e aditivos, são os que possuem maior valor agregado e baixo volume nas cadeias produtivas de biomassa, pois são primordiais para a indústria química e para o desenvolvimento econômico de diversos setores industriais, como petroquímico, automotivo, farmacêutico, cosméticos, etc., apesar de ser uma indústria um pouco mais custosa e difícil de avaliar, pois não há um nível tecnológico desenvolvido para cumprir os objetivos necessários para sua produção (CRISTÓBAL *et al.*, 2018). Exemplos de produtos químicos derivados de biorrefinarias são: acetona, butanol, ácido cítrico, ácido lático, ácido acético, ácido propiônico, ácido glucônico, 1,3-propanodiol, polietileno e como produto químico intermediário tem-se o 2,3-BD (RODRIGUES, 2011).

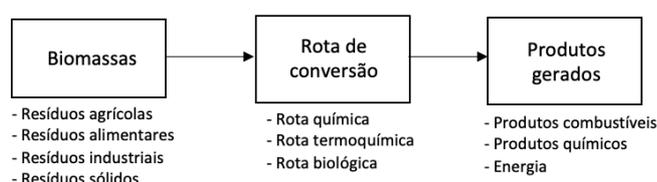


Figura 1. Esquema de cadeia de processo básico de uma biorrefinaria. Baseado em (FERNANDO *et al.*, 2006).

Ao seguir a rota da biorrefinaria, muitos fatores precisam ser considerados até sua aplicação em larga escala ser dimensionada. Assim, nos tópicos a seguir serão comentadas as etapas de um processo básico de uma biorrefinaria.

3.1.1 Resíduos de biomassas utilizadas como substrato

Com o objetivo de alcançar conceitos e atitudes ambientalmente mais corretos e sustentáveis, a biomassa utilizada como matéria-prima surgiu como alternativa às fontes fósseis convencionas, por ser um opção mais racional à base de carbono, obtida de plantas, animais e microrganismos diversos (ISLAM *et al.*, 2020). Assim, um dos primeiros fatores a serem levados em consideração em processos de biorrefinarias é a escolha apropriada da biomassa a ser utilizada como matéria-prima.

Um aspecto bastante discutido e preocupante nessa etapa é o empasse sobre “alimentos versus não alimentos” (ATTARD; CLARK; MCELROY, 2020). A escolha por biomassas alimentares comestíveis foi em um primeiro momento a primeira opção a ser escolhida pelas indústrias como alternativa às reservas fósseis, devido a sua grande disponibilidade mundial, elevado conteúdo de açúcar e de lipídeos, e fácil conversão em energia, produtos químicos e biocombustíveis. Porém, essa escolha levanta sérios questionamentos, como a competição com as indústrias de alimentos e rações pela mesma matéria-prima e terras férteis, ocasionando aumento nos preços dos alimentos, além de gerar maior impacto tanto no nível

ambiental, como social e econômico (DENEYER; ENNAERT; SELS, 2018), preponderando assim, a opção pelo uso das biomassas não comestíveis.

A biomassa não comestível engloba matérias-primas com base em resíduos de origem biológica, incluindo resíduos agrícolas e florestais, resíduos alimentares, resíduos sólidos urbanos, resíduos industriais e até mesmo resíduos animais (NIZAMI *et al.*, 2017). Com base na fonte de matéria-prima usada, pode-se classificar a biomassa em dois tipos: as biomassas não-celulósicas e as biomassas lignocelulósicas (MACHADO, 2018).

3.1.1.1 Biomassa não-celulósica

As biomassas não-celulósicas caracterizam-se por terem, em geral, diversos açúcares e polissacarídeos livres que podem ser usados como fontes de carbono para a fermentação bacteriana e geração de energia, produtos químicos e combustíveis de base biológica e polímeros (LIAKOU *et al.*, 2018). Alguns exemplos são resíduos alimentares, resíduos industriais, resíduos animais (NIZAMI *et al.*, 2017) e o glicerol (ANITHA; KAMARUDIN; KOFLI, 2016).

As principais fontes de desperdício de alimentos são restaurantes, produtos alimentícios e alimentos vencidos. Estudos relatam que cerca de 50% do alimento produzido é perdido ou desperdiçado antes de chegar ao consumidor final, correspondendo há mais de 1,3 bilhões de toneladas por ano de alimentos desperdiçados no mundo. Isso representa um importante e grande problema ambiental e social. Por isso, a crescente demanda por produtos químicos e combustíveis, além do anseio por soluções mais sustentáveis, estão incentivando a reutilização e a valorização eficiente dos resíduos orgânicos dos alimentos da cadeia de suprimentos (LIN *et al.*, 2013).

Resíduos de frutas, cana-de-açúcar e beterraba, por exemplo, são ricos em glicose, frutose e sacarose, já os resíduos vegetais requerem uma etapa de pré-tratamento para hidrolisar as frações de celulose e hemicelulose em açúcares de pentose e hexose, onde seu baixo teor em lignina simplifica esse processo. Frutas e vegetais também são ricos em vários componentes de valor agregado, por exemplo, compostos bioativos, como polifenóis e pectinas, que podem ser extraídos antes da fermentação dos carboidratos, levando ao desenvolvimento de conceitos integrados de biorrefinaria (LIAKOU *et al.*, 2018). Nizami *et al.* (2017) também avaliaram o potencial de resíduos alimentares de macarrão como fonte de carbono. Por serem altamente ricos em amido, óleos e lignocelulose, possuem potencial para a geração de combustíveis, como bioetanol, biogás e biodiesel através de tecnologias avançadas de transesterificação, gaseificação e fermentação e produtos de valor agregado, como enzimas, pigmentos e lipídeos.

Outra fonte promissora de biomassa não-celulósica é o glicerol, subproduto obtido da transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais, obtidos de diferentes indústrias, como a de sabão, de ácidos graxos, de ésteres graxos e a indústria de biodiesel. O grupo de três hidroxilas na estrutura do glicerol adiciona benefícios para suas transformações biológicas e químicas em produtos químicos lucrativos, como aditivos de combustíveis, substrato para fermentação, ração animal, geração de metanol e em tratamento de efluentes (ANITHA; KAMARUDIN; KOFLI, 2016). A produção fermentativa de produtos biológicos de alto valor

agregado a partir do glicerol, como ácido glicérico, ácido cítrico, etanol (BRAVO, 2020) e 2,3-BD (SANTOS, 2017) também vem ganhando notoriedade no último anos.

O principal motivo do interesse por glicerol como fonte de carbono renovável é devido ao aumento da produção de biodiesel como biocombustível em todo o mundo, o que gera grande quantidade de glicerol como subproduto. Foi estimado que, em 2020, seriam produzidos 5,87 bilhões de libras de glicerol bruto de acordo com a demanda estimada para a produção de biodiesel de 8 bilhões de galões (KUMAR *et al.*, 2019), o que demonstra a abundância do glicerol para ser utilizado como uma alternativa de substrato renovável.

3.1.1.2 Biomassa lignocelulósica

A biomassa lignocelulósica é o polímero orgânico mais abundante do planeta, visto que é um recurso energético renovável e naturalmente disponível em plantas, não prejudicando assim o cultivo de culturas alimentares. Dessa maneira, a exploração de seu potencial energético vem sendo amplamente incentivado, sendo estimada uma produção superior a 185,1 bilhões de toneladas por ano (ATTARD; CLARK; MCELROY, 2020). A lignocelulose pode ser encontrada em diversos setores, como na agricultura, em forma de resíduos agrícolas, como palha de arroz, palha de trigo, bagaço de cana-de-açúcar, palha de milho (HAZEENA *et al.*, 2020), palha de cevada, casca de coco (UBANDO; FELIX; CHEN, 2020) e casca de soja (ARORA *et al.*, 2020), e em florestas, em forma de madeira (HAZEENA *et al.*, 2020).

Independentemente da fonte, a lignocelulose compõe a parede vegetal das plantas e sua composição exata varia conforme a espécie (ISLAM *et al.*, 2020). Porém, basicamente ela apresenta uma mistura complexa de celulose (35-50%), hemicelulose (20-35%), lignina (10-25%) e pequenas quantidades de extrativos (lipídeos, proteínas, açúcares simples, amido, cinzas, entre outros) (ARORA *et al.*, 2020). A aparência física e a resistência da biomassa dependem da concentração variável desses polímeros e, portanto, influenciam muito no tipo de estratégia de pré-tratamento aplicado para a liberação de seus açúcares (KUMAR *et al.*, 2020). Uma visão geral da composição química da biomassa lignocelulósica é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Análise por composição de diferentes biomassas lignocelulósicas.

Classificação	Tipo de biomassa	Análise da composição	Referências
Lignocelulósica	Casca de soja	29-51% celulose 10-25% hemicelulose 1-9% lignina 9-14% proteína	(COSTA, 2017)
	Palha de arroz	32,1% celulose 24% hemicelulose 18% lignina 1,2% cinzas	(KUCHARSKA <i>et al.</i> , 2018)
	Casca de arroz	28,7-40,0% celulose 12,0-29,3% hemicelulose 15,4-26,0% lignina	(KUMAR <i>et al.</i> , 2020)
	Palha de milho	30,6-43,9% celulose 19,1-28,9% hemicelulose 16,7-21,8% lignina	(KUMAR <i>et al.</i> , 2020)
	Sabugo de milho	33,7-41,2% celulose 31,9-15,9% hemicelulose 6,1-15,9% lignina	(KUMAR <i>et al.</i> , 2020)
	Polpa de beterraba sacarina	23% celulose 19,5% hemicelulose 2,6% lignina 30,3% pectina 9,6% proteína	(UBANDO; FELIX; CHEN, 2020)
	Bagaço de cana-de-açúcar	40-45% celulose 30-35% hemicelulose 20-30% lignina	(HAZEENA <i>et al.</i> , 2020)
	Kenaf	58-63% celulose 21-24% hemicelulose 12-14% lignina	(CORREIA, 2011)
	Palma	38,04% celulose 19,81% hemicelulose 18,79% lignina 0,49% cinzas	(HAZEENA <i>et al.</i> , 2019)

O principal composto da parede celular é a celulose. A celulose é o polissacarídeo mais abundante da natureza, sendo encontrado em plantas e alguns microrganismos, como bactérias. É um polissacarídeo linear formado apenas por unidades de β -D glicose (hexose),

ligadas por meio dos carbonos 1 e 4, e possui forma empírica $(C_6H_{10}O_5)_n$. A parede celular forma-se das ligações de hidrogênio que unem-se a partir das cadeias de celulose, formando as microfibrilas, estrutura filamentosa (MENEZES, 2005) que pode assumir duas diferentes formas, a forma cristalina, uma estrutura insolúvel, e a forma amorfa, na qual a celulose não tem um arranjo definido (nessa condição a celulose está suscetível a maiores ataques enzimáticos) (COSTA, 2017), constituindo assim a estrutura da parede celular. Isso permite um arranjo ordenado e estruturado da celulose, conferindo a ela as suas propriedades mais importantes, em particular a grande resistência mecânica, natureza altamente coesiva e regiões cristalinas e amorfas bem definidas (BORGES, 2020).

Na parede celular, a celulose está associada com outros polissacarídeos não celulósicos, principalmente a hemicelulose. A hemicelulose é o segundo polissacarídeo mais abundante da natureza, é amorfo e pode apresentar cadeias lineares ou ramificadas de açúcares, como arabinose, xilose, galactose, manose e glicose ligadas por β - e α -glicosídicos. Encontradas em estreita associação com a celulose e a lignina nas paredes celulares das plantas, as classes de hemiceluloses são nomeadas de acordo com as unidades principais de açúcares presentes na cadeia principal (COSTA, 2017). A produtividade da hemicelulose não é tão alta se comparada aos bioprocessos utilizando a glicose, porém por ser uma matéria-prima barata e abundante, torna-se uma alternativa economicamente atrativa (MACHADO, 2018). Outra característica interessante são suas propriedades físico-químicas que lhe conferem melhor susceptibilidade ao tratamento ácido. Dessa maneira, pelo fato de possuir massa molecular menor, ligações químicas mais fracas e estrutura amorfa, há maior liberação de açúcares que podem ser utilizados para a obtenção de insumos químicos (BORGES, 2020).

A lignina é um polímero de composição complexa, composto de unidades fenilpropanóides, principalmente álcool coniferílico, álcool sinapílico e álcool *p*-cumarílico. Devido à sua estrutura molecular complexa, a lignina tem como função fornecer suporte estrutural à parede vegetal e resistência à degradação biológica, além de ser comumente insolúvel na maioria dos solventes (COSTA, 2017). Ela é geralmente separada durante o pré-tratamento da biomassa, visando tornar as fibras de celulose mais acessíveis às enzimas para melhor extração dos açúcares. Ao contrário da celulose e da hemicelulose, 98% da lignina é subutilizada principalmente para a geração de energia e calor para a produção de combustíveis e produtos químicos, e apenas 2% da lignina total do mercado está relacionada à produção de compostos de maior valor agregado (YAMAKAWA; QIN; MUSSATTO, 2018). Esses fatores estimulam o aproveitamento de recursos naturais e o desenvolvimento de biorrefinarias integradas, porém a conversão e a aplicação da lignina ainda têm muito a ser explorada no mercado.

As porções celulósicas e hemicelulósicas da biomassa podem ser utilizadas para diferentes finalidades, podendo ser hidrolisadas a vários açúcares e então fermentadas. A Figura 2 mostra a estrutura celular da biomassa lignocelulósica. Apesar dos resíduos lignocelulósicos necessitarem de um pré-tratamento por meio de hidrólise (ácida ou enzimática) para a liberação desses açúcares fermentescíveis, sua utilidade é valiosa e interessante devido ao seu baixo custo e alta disponibilidade (AGLIARDI, 2018).

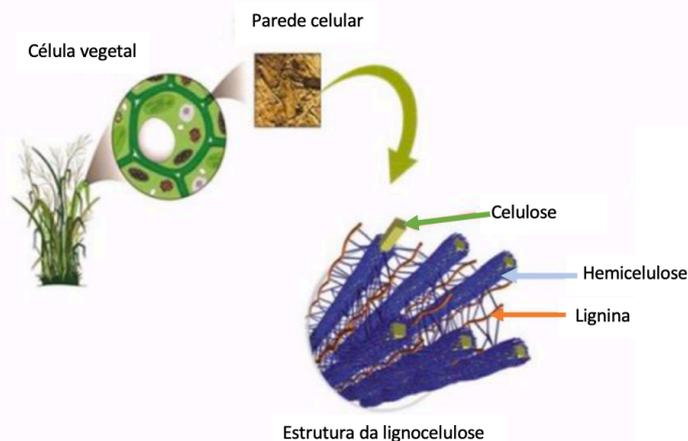


Figura 2. Estrutura celular da biomassa lignocelulósica. Baseada em (BORGES, 2020).

3.1.2 Rotas de conversão

Atualmente, uma biorrefinaria integra principalmente três rotas de conversão em busca do melhor aproveitamento e aumento de rendimento da biomassa e da energia nela contida, sendo ainda destacado por Cristóbal et al. (2018), que a maioria dessas rotas de conversão da biomassa são únicas para se chegar a produtos finais distintos. São elas: rotas químicas, termoquímicas e biológicas.

3.1.2.1 Rota química

A rota química utiliza diferentes produtos químicos, como ácidos, álcalis ou solventes para que o processo de hidrólise ácida e enzimática se torne mais eficiente para a conversão das matérias-primas em produtos e combustíveis (NIZAMI *et al.*, 2017). Em tratamentos utilizando solventes orgânicos, há uma extração de lignina pela reação química com misturas de solventes orgânicos ou aquosos com catalisadores de ácido inorgânico. Várias misturas desses solventes tem sido utilizadas para este fim, como metanol, etanol, acetona, etilenoglicol, trietilenoglicol e álcool tetra-hidrofurfurílico (HAZEENA *et al.*, 2020).

O pré-tratamento com ácidos tem sido amplamente estudado, pois tem a capacidade de melhorar a porosidade da biomassa, além tornar a celulose e a hemicelulose mais acessíveis ao ataque das enzimas. Diferentes ácidos orgânicos e inorgânicos podem ser usados como aliados nesse processo, sendo os mais comumente usados ácido clorídrico e sulfúrico (KUMAR *et al.*, 2020). Um dos métodos mais eficientes para a liberação dos açúcares fermentescíveis é o processo realizado com ácido diluído e temperatura intermediária (60-160°C) (MACHADO, 2018). Kumar et al. (2020) descreveram em seu estudo que o pré-tratamento de *Triarrhena lutarioriparia* com ácido clorídrico diluído resultou em um aumento da hidrólise enzimática em 1,34 vezes, com rendimento total de açúcar redutor de 100,14 mg.g⁻¹ de biomassa em comparação com o processo não tratado. Apesar das vantagens, durante esse processo é possível a formação de compostos inibidores da fermentação, como furfural e 5-hidroximetilfurfural, portanto a escolha apropriada do pré-tratamento, do tempo e da temperatura são essenciais para bons resultados.

No tratamento alcalino, a biomassa é tratada com álcalis, como hidróxido de sódio, cálcio e amônio em temperatura e pressão normais. O tratamento alcalino tem o objetivo de quebrar as ligações e a estrutura da lignina, a fim de tornar a matriz mais acessível aos processos de fermentação e enzimas, aumentando sua área superficial e reduzindo a cristalinidade da celulose (HAZEENA *et al.*, 2020). Kumar *et al.* (2020) descrevem um exemplo de tratamento alcalino, onde cascas de arroz são tratadas com hidróxido de sódio (2% em peso), resultando em uma eficiente remoção de lignina (54% em peso) e um aumento da concentração de celulose de até 51,65% em peso acompanhado de baixa solubilização de hemicelulose, com 10,7-33,1% em peso. Porém, os autores destacam que a aplicação excessiva de hidróxido de sódio pode atuar como inibidor na fermentação e tem impactos negativos para o ambiente.

3.1.2.1 Rota termoquímica

As tecnologias termoquímicas envolvem processos como pirólise, gaseificação por arco de plasma, incineração, liquefação e carbonização com altas temperaturas para a conversão de matéria-prima. Em seu artigo, Nizami *et al.* (2017) relatam grandes vantagens da incineração de resíduos em geral como tecnologia apropriada para a geração de eletricidade em comparação com outras tecnologias de biorrefinaria. Além de reduzir o volume de resíduos em até 80%, essa é a tecnologia que tem menor custo operacional e menor capital com base na tonelada de resíduos por ano, e é menos complexa com relação a sua tecnologia e qualificação de trabalho, se comparada com outras tecnologias de biorrefinaria. No entanto, a incineração produz maiores emissões de gases de efeito estufa, gases nocivos e produção e liberação de produtos químicos cancerígenos (dioxinas), podendo causar poluição ambiental. Dessa maneira, a instalação dessa tecnologia em qualquer região exigirá protocolos de limpeza de emissões apropriados e eficazes para a preservação do meio ambiente (NIZAMI *et al.*, 2017).

Outra tecnologia que vem sendo amplamente explorada é a pirólise, que se caracteriza pela decomposição térmica controlada (400-650°C) de biomassa orgânica derivada de resíduos sólidos e líquidos, juntamente com alguns voláteis (DAI *et al.*, 2020), para a produção de carvão, bio-óleos e gases não condensáveis (KUMAR *et al.*, 2020). Uma importante utilidade desse processo é seu estudo como recurso para a valorização da lignocelulose, em especial a lignina. A partir da pirólise catalítica da lignina, é possível produzir bio-óleos ricos em hidrocarbonetos aromáticos, incluindo a mistura de benzeno, tolueno e xileno, além da possível produção de fibras de carbono (YAMAKAWA; QIN; MUSSATTO, 2018).

Segundo Dai *et al.* (2020), para que a produção de hidrocarbonetos aromáticos a partir da pirólise catalítica da biomassa seja eficiente, o oxigênio da biomassa deve ser removido de maneira que haja a mínima perda de quantidade de carbono do processo, tendo em vista que essa reação de desoxigenação tende a formar CO, CO₂ e H₂O. Dessa maneira, a aplicação de zeólitas, em especial a ZSM-5, como catalisadora dessa conversão, apresenta excelentes sítios ácidos e seletividade para compostos aromáticos e olefinas.

Nizami *et al.* (2017) relataram algumas características interessantes da pirólise como tecnologia em biorrefinarias. Apesar de sua utilização poder recuperar até 80% da energia dos

resíduos utilizados e gerar produtos de alta energia e fácil separação, o grau de impureza nesses produtos deve ser observado. Seu custo operacional e de manutenção também devem ser avaliados, pois tendem a ser mais caros, além da necessidade de grande quantidade de energia para o início do processo.

3.1.2.2 Rota biológica

A rota biológica engloba a fermentação por diferentes microrganismos, como fungos e bactérias, além de processos como digestão anaeróbia, compostagem e também a partir de enzimas para a conversão de diferentes tipos de matérias-primas em combustíveis e produtos químicos (NIZAMI *et al.*, 2017). Os fungos secretam enzimas para digerir a lignina e a hemicelulose sem retirar a celulose (HAZEENA *et al.*, 2020), já as bactérias podem ser usadas para degradar a biomassa vegetal em condições atmosféricas onde muitos fungos não são capazes de sobreviver, podendo agir tanto em condições aeróbias quanto em condições anaeróbias (SINGH, 2021).

A fermentação tem sido muito utilizada em processos de biorrefinarias, especialmente para a conversão de açúcares derivados de biomassa lignocelulósica em produtos químicos e combustíveis. Comparada com outros tratamentos biológicos, como compostagem e digestão anaeróbia, a fermentação é mais exigente nas propriedades da matéria-prima, nas cepas de microrganismos e nas condições de inóculo, por isso antes dela geralmente é empregada a hidrólise enzimática para facilitar o processo (SONG *et al.*, 2021). No processo de hidrólise enzimática, as enzimas podem ser usadas para reduzir a polimerização da celulose, hidrolisar a hemicelulose e remover a lignina (SINGH, 2021).

Uma possível desvantagem desse método é seu processamento em larga escala ainda ser limitado, pois necessita de grande área de espaço físico, longo tempo de incubação e manutenção de condições assépticas para o crescimento microbiano em diferentes parâmetros do processo. Porém, em geral, processos envolvendo tratamentos biológicos abrangem condições amenas e baixo custo de métodos operacionais, consumo de produtos químicos, necessidade de energia, utilização de água e geração de resíduos (HAZEENA *et al.*, 2020; KUMAR, B. *et al.*, 2020). Assim, neste trabalho foi abordada a revisão da fermentação como rota biotecnológica de uma biorrefinaria para a produção microbiana de 2,3-BD.

A rota biotecnológica fermentativa para a produção de 2,3-BD, geralmente é dividida em duas etapas principais (Figura 3), onde a primeira engloba todo o seu processo de produção, desde a escolha da biomassa até a produção do caldo fermentado contendo o álcool desejado (HAIDER *et al.*, 2020), e a segunda etapa abrange os processos de separação sólido-líquido, remoção de impurezas e a recuperação primária de 2,3-BD do caldo de fermentação, assim como sua purificação final (DAI, LIU E XIU, 2015; SABRA *et al.*, 2011). O próximo tópico deste trabalho abordará as principais características dessas etapas, explanando de maneira concisa o processo de uma biorrefinaria para a produção de 2,3-BD.

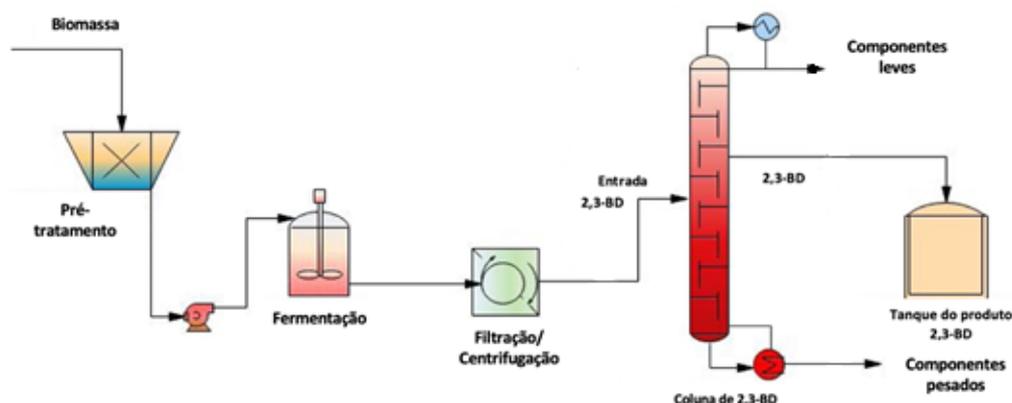


Figura 3. Esquema do processo completo de produção e recuperação de 2,3-BD. Baseado em (HAIDER *et al.*, 2020).

3.2 Biorrefinarias para a produção de 2,3-butanodiol

3.2.1 O 2,3-butanodiol

O 2,3-BD trata-se de um diálcool com duas hidroxilas ligadas à cadeia carbônica. Possui peso molecular de $90,121 \text{ g.mol}^{-1}$, fórmula molecular $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2$ e, além disso, pode existir em três formas isoméricas: D-(-)-, L-(+)- e meso-. Ele é considerado um líquido viscoso, incolor e inodoro e pode ser encontrado em pequenas quantidades em tecidos de plantas e animais superiores, assim como em vários produtos alimentícios, neste caso, pela ação de microrganismos (MARIOTTO, 2007).

Geralmente sintetizado por rota petroquímica, o 2,3-BD pode ser produzido organicamente por alguns microrganismos via fermentação de açúcares, sendo também considerado um composto orgânico biodegradável, o que torna um aspecto positivo para seu uso por ser menos agressivo ao ambiente. Sua produção biotecnológica tem seu primeiro registro datado no ano de 1906, por Harden e Walpole e em 1912 por Harden e Norris, onde relataram sua produção usando *Klebsiella pneumoniae*. Em 1926, culturas de *Paenibacillus polymyxa* foram conduzidas pela primeira vez, objetivando uma produção mais segura, uma vez que essa bactéria não apresenta patogenicidade (HAZEENA *et al.*, 2020; JI; HUANG; OUYANG, 2011; NETO, 2017).

Apesar do seu alto potencial industrial, uma grande quantidade de água é necessária para sua separação do meio de cultivo, pois seus isômeros possuem pontos de ebulição maiores que o da água, variando entre 177 e 182°C . Assim, recuperar o 2,3-BD via fermentação torna-se complexo e custoso (HAZEENA *et al.*, 2020). Mesmo com esse impasse, suas amplas aplicações como composto químico são de extrema utilidade na indústria devido às suas propriedades físico-químicas (Figura 4). Geralmente é usado como matéria-prima para a conversão de outros produtos finais (SCHILLING *et al.*, 2020), se mostrando um composto versátil não só para a indústria de alimentos, mas também para a indústria química e

farmacêutica. O 2,3-BD pode ser usado como agente anticongelante, por possuir baixo ponto de congelamento, em torno de -60°C e também como aditivo para combustíveis quando convertido em metil-etil-cetona (butanona), visto que seu alto poder calorífico ($27.198 \text{ kJ.kg}^{-1}$) se compara ao do etanol ($29.055 \text{ kJ.kg}^{-1}$) e ao do metanol ($22.081 \text{ kJ.kg}^{-1}$) (MACHADO, 2018; SILVA, F. L., 2020). Outra alternativa que pode ser misturada à gasolina por possuir alto poder calorífico é a acetona 2,3-butanodiol, composto formado pela cetalização do 2,3-BD (SILVA, D. B.; SOUZA; ANTERO, 2017).

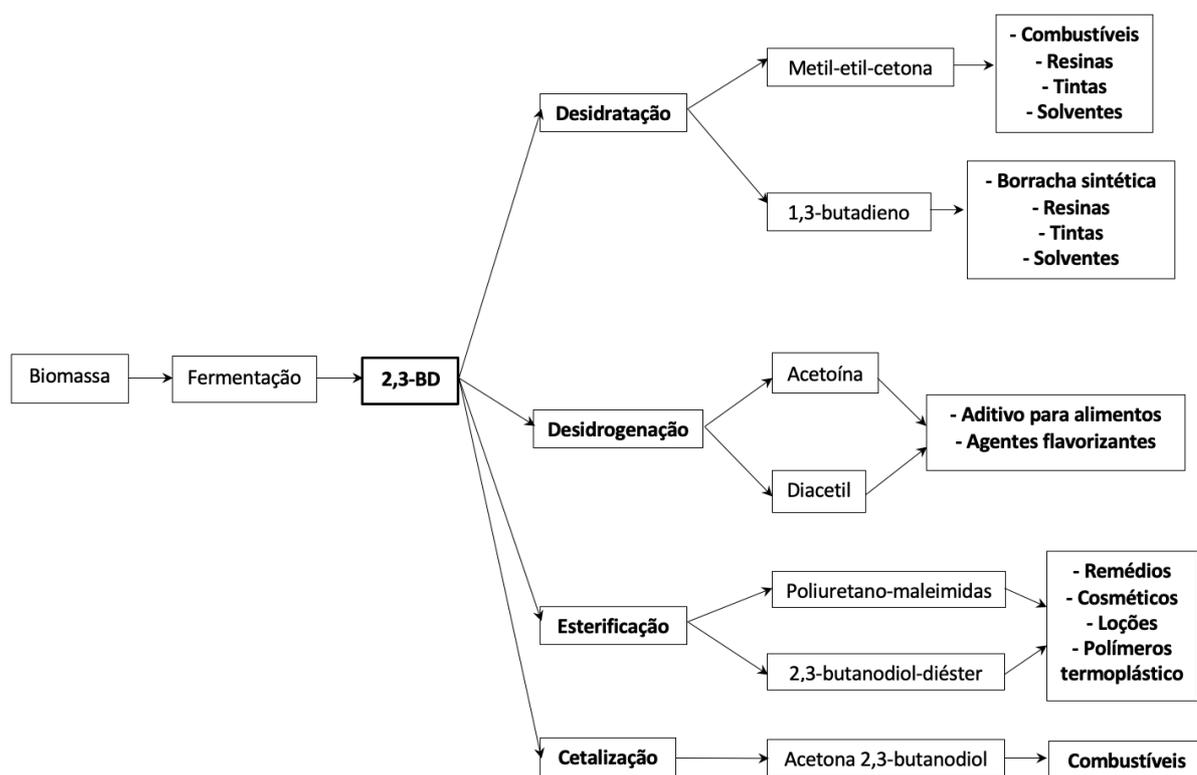


Figura 4. Exemplos de aplicação do 2,3-BD. Adaptado de (MACHADO, 2018; SILVA, 2020).

Seu uso em escala comercial começou a prosperar durante a Segunda Guerra Mundial, onde tornou-se o principal insumo para a obtenção de 1,3-butadieno, intermediário orgânico para a produção de borracha sintética (CELIŃSKA; GRAJEK, 2009; THAPA *et al.*, 2019). Com o final da guerra, em meados da década de 1950, o investimento na produção microbiana de 2,3-BD perdeu forças, pois rotas químicas mais baratas a partir do petróleo para a produção de 1,3-butadieno se tornaram disponíveis (MOO-YOUNG, 2011).

Porém, em 1970, com a crise do petróleo, o recurso energético mais importante da história fomentou a dependência das grandes potências mundiais interessadas em seus benefícios, desenrolando à incessantes questões políticas internacionais e a uma crise cujo desfecho foi considerado o ponto final da era promissora do petróleo que vinha desde os anos de 1950 (HAGE, 2018). Assim, o interesse em uma produção mais sustentável a partir da biomassa renovável veio à tona novamente, retomando as extensas pesquisas já estudadas anteriormente (MOO-YOUNG, 2011).

Atualmente, esses estudos aprofundados em biotecnologia, genética, química de processos e engenharia estão levando ao desenvolvimento de um novo conceito de conversão de biomassa renovável em combustíveis e produtos valiosos, as biorrefinarias, que visam o aproveitamento de carbono e a eficiência energética. Assim, a fermentação microbiana vem ganhando cada vez mais força como um método alternativo promissor para a produção econômica de 2,3-BD (MA *et al.*, 2018; RAGAUSKAS *et al.*, 2006).

3.2.2 *Microrganismos produtores de 2,3-butanodiol*

Na natureza há uma quantidade significativa de leveduras e até mesmo algas com a capacidade de produzir 2,3-BD a partir de biomassa, porém os rendimentos constatados são baixos e ineficientes. Por isso, atualmente, as bactérias tem sido mais estudadas para a sua produção, destacando-se por produzi-lo em quantidades consideráveis (MOO-YOUNG, 2011).

Diversas espécies de bactérias são capazes de sintetizar o 2,3-BD via fermentação. Dados experimentais comprovam a presença dele em rotas metabólicas de diferentes substratos nos seguintes grupos taxonômicos: *Aeromonas hydrophyla*, *Bacillus subtilis*, *Brevibacillus brevis* S1, *Corynebacterium glutamicum*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. *Diacetylactis*, *Leuconostoc lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subps. *Cremoris*, *Oenococcus oeni*, *Pediococcus pentosaceus*, *Raoultella terrigena*, *Serratia marcescens*, *B. polymyxa*, *Klebsiella terrigena*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Aerobacter indologenes*, *rhizobacterium Pseudomonas chlororaphis* O6, a microalga marinha *Chlamydomonas perigranulata* (BINOTTO, 2016), *Enterobacter ludwigii* (LIAKOU *et al.*, 2018) (PSAKI *et al.*, 2019), *B. licheniformis*, *B. velezensis* 5RB, *B. toyonensis* 11RA, *B. safensis* 14A (PETROVA; PETLICHKA; PETROV, 2020), *Vibrio natriegens* (ERIAN *et al.*, 2020). Segundo Celińska e Grajek. (2009), várias espécies diferentes de bactérias são capazes de transformar o piruvato em 2,3-BD, porém destacam que nem todas essas espécies realizam o processo até o final e às vezes um intermediário pode ser acumulado na ausência de 2,3-BD.

É importante salientar que mesmo que o rendimento e a produtividade dessas bactérias para a produção de 2,3-BD sejam relevantes e hajam processos totalmente otimizados para sua produção industrial econômica, o cumprimento das normas de segurança para o uso dessas cepas devem ser avaliados e considerados (HAZEENA *et al.*, 2019). É fundamental notar que a maioria dos microrganismos empregados na fermentação de 2,3-BD são, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), patogênicos (classe 2), sendo indesejados para a fermentação em escala industrial. Assim, a necessidade indispensável de microrganismos GRAS (Geralmente Reconhecidos como Seguros), classe 1, é pronunciada (CELIŃSKA; GRAJEK, 2009; PETROVA; PETLICHKA; PETROV, 2020).

Klebsiella pneumoniae é uma das mais utilizadas como agente fermentadora na maioria dos estudos sobre fermentação, possuindo os títulos mais altos de 2,3-BD até agora encontrados, pois apresenta estabilidade genética, ausência de produção de subprodutos indesejados e capacidade de metabolizar a maioria dos açúcares presentes em hidrolisados de celulose e hemicelulose em diferentes substratos. No entanto, sua maior restrição

encontra-se no fato dela ser considerada um microrganismo patogênico (AGLIARDI, 2018; HAZEENA *et al.*, 2020).

P. polymyxa, apesar de produzir metade da quantidade de 2,3-BD que o gênero *Klebsiella* é capaz de produzir, sintetiza a forma *levo* de 2,3-BD com um grau de pureza de até 98%, sendo um interessante isômero para aplicações industriais. Além disso, essa bactéria é classificada como classe 1, o que permite sua aplicação industrial segura. Porém, seu rendimento pode ser comprometido dependendo da sua quantidade no meio, pois alguns subprodutos podem ser gerados (NETO, 2017).

Petrova, Petlichka e Petrova. (2020) mostram que as cepas *B. velezensis* 5RB, *B. toyonensis* 11RA, *B. licheniformis* 24 e *B. subtilis* 35 além de pertencerem a classe 1, também apresentam algumas vantagens específicas. *B. velezensis* 5RB é capaz de produzir uma série de substâncias antimicrobianas, permitindo a atuação de bioprocessos em condições não estéreis. *B. toyonensis* 11RA é um raro representante não patogênico que tem efeito benéfico em plantas e animais, e as cepas de *B. licheniformis* 24 e *B. subtilis* 35 também são conhecidas como candidatas a probióticos. Yang e Zhang. (2019) também ratificam que as bactérias *B. subtilis* e *B. licheniformis* são potentes produtoras de 2,3-BD com status GRAS, além da bactéria *B. amyloliquefaciens*.

Além dos avanços de produção biotecnológica de 2,3-BD através da fermentação com microrganismos nativos, estudos envolvendo a produção de 2,3-BD via microrganismos geneticamente modificados estão sendo desenvolvidos e aplicados como estratégias para melhoria e cultivo de linhagens. Um dos relatos de Yang e Zhang. (2019) em seu trabalho, mostra que hospedeiros nativos de *K. pneumoniae* e *K. oxytoca* produzem 2,3-BD com os títulos mais altos já propostos (150 g.L⁻¹ e 130 g.L⁻¹, respectivamente), porém ambos são patogênicos. Então, através de estratégias e avanços da engenharia metabólica, pode-se observar que modificando uma cepa de *K. pneumoniae* é possível produzir, por exemplo, 12% mais de 2,3-BD em comparação a cepa de tipo selvagem em uma fermentação em batelada, além de ser possível eliminar a patogenicidade dessa bactéria construindo e usando hospedeiros eficientes. Já em cepas de *K. oxytoca*, os mesmos autores mostraram que cepas modificadas desse microrganismo são capazes de produzir 117,4 g.L⁻¹ de 2,3-BD com o maior rendimento já relatado de 0,49 g.g⁻¹.

Vias metabólicas com leveduras também estão sendo estudadas e geneticamente manipuladas para serem fontes promissoras da síntese de 2,3-BD. Foi proposto por Lee e Seo. (2019) a produção de 2,3-BD por cepas metabolicamente modificadas de *Saccharomyces cerevisiae* (microrganismo GRAS) como hospedeira, a partir de hidrolisados de glicose e mandioca. Essas cepas exibem alta tolerância contra álcoois, açúcares e condições de fermentação severas, sendo mais vantajoso seu uso em comparação ao microrganismo *S. cerevisiae* nativo, que tem preferência para a produção de etanol ao invés de 2,3-BD.

Outro exemplo de desenvolvimento na área de engenharia genética foi constatado por Kim *et al.* (2020), que através de uma modificação da cepa de *Enterobacter aerogenes*, conseguiu melhorar o título, a produtividade e o rendimento do 2,3-BD a partir de biomassa lignocelulósica, reduzindo a produção de subprodutos. A cepa modificada exibiu 66,6, 13,4 e

16,8% de melhorias no título, rendimento e produtividade de 2,3-BD, respectivamente, em comparação com sua cepa parental sob condições de fermentação em batelada alimentada. Dessa maneira, é imprescindível o conhecimento prévio das características biológicas do microrganismo e do objetivo que se deseja na produção biotecnológica: se segurança em larga escala, se determinado isômero ou se maior produção de 2,3-BD (NETO, 2017).

3.2.3 Rota metabólica do 2,3-butanodiol a partir da glicose

O 2,3-BD é sintetizado por meio de uma via de fermentação conhecida como ácido-mista (CELIŃSKA; GRAJEK, 2009) ou butileno-glicólica (NETO, 2017) sob crescimento anaeróbico ou microaeróbico, que dependendo do microrganismo utilizado e das condições de cultivo do processo, pode ser produzido, além do 2,3-BD, outros produtos finais, como etanol, acetato, lactato, formato e succinato (MOO-YOUNG, 2011).

Cada microrganismo apresenta sua rota e sua atividade metabólica, logo a via biotecnológica pode diferir conforme a espécie de bactéria utilizada. Entretanto, a maioria desses produtos são sintetizados biologicamente a partir do piruvato (derivado da glicose ou biomassa) através da ação dos compostos intermediários, α -acetolactato, acetoína, diacetil e três enzimas principais, α -acetolactato sintase, α -acetolactato descarboxilase e 2,3-butanodiol desidrogenase, que apresentam atividade ótima em pH ácido, condição na qual o piruvato consegue ser convertido nos produtos desejados (AGLIARDI, 2018; HAZEENA *et al.*, 2020; NETO, 2017).

Inicialmente (Figura 5), piruvato é convertido em α -acetolactato a partir da ação da enzima α -acetolactato sintase. Essa enzima promove a descarboxilação do piruvato, sob condições anaeróbicas e de baixa disponibilidade de NADH. A presença de oxigênio inativa a α -acetolactato sintase, o que afeta a produção de 2,3-BD. A enzima α -acetolactato descarboxilase realiza a produção de acetoína a partir do α -acetolactato, mas apenas em condições anaeróbicas. Se houver presença de oxigênio, o α -acetolactato sofre descarboxilação espontânea gerando o diacetil. Quando isso ocorre, outra enzima entra em ação para produzir a acetoína, a diacetil redutase (CELIŃSKA; GRAJEK, 2009). Na última etapa de formação do 2,3-BD, quem catalisa a reação é a enzima 2,3-butanodiol desidrogenase ou acetoína redutase. Há relatos de que essa última enzima, no metabolismo de alguns microrganismos, pode estar envolvida em duas etapas, tanto na produção do 2,3-BD a partir da acetoína quanto na produção da acetoína a partir do diacetil (SANTOS, 2017).

Todas as enzimas e substâncias presentes na rota produtiva do 2,3-BD são obtidas nas fases exponencial e estacionária do crescimento microbiano (estacionária quando em frascos agitados), pois nelas ocorre a limitação de oxigênio, condição necessária para sua síntese. Além disso, o pH ácido contribui para a obtenção de várias dessas enzimas, ao permitir que o acetato, gerado paralelamente ao 2,3-BD, induza suas formações (NETO, 2017).

Até o momento, a função metabólica da síntese de 2,3-BD ainda é pouco conhecida, porém, há hipóteses de que a biossíntese de 2,3-BD tem uma importância fisiológica essencial para os microrganismos produtores. Essa condição está associada ao fato de o 2,3-BD contribuir para a acidificação intracelular preventiva, contribuindo para a regulação celular da

razão NADH/NAD⁺ no interior das células, ajudando a compensar a perda de energia associada à glicólise. Além disso, ele ajuda no armazenamento de carbono e energia para o crescimento microbiano, especialmente na fase estacionária, quando o substrato já foi totalmente consumido (HAKIZIMANA; MATABARO; LEE, 2020; NETO, 2017).

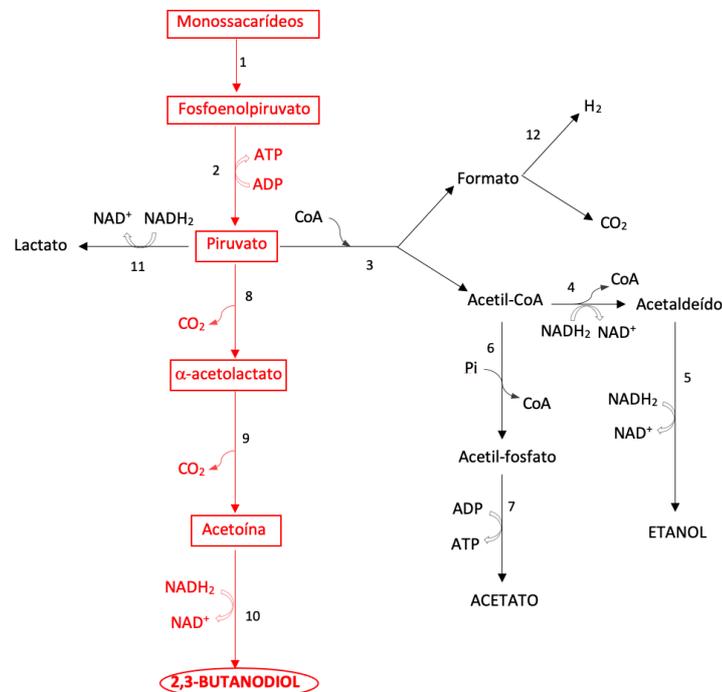


Figura 5. Via de fermentação ácido-mista para a produção de 2,3-BD sob condições anaeróbias ou com limitação de oxigênio. 1- via glicolítica/via pentoses fosfato; 2- piruvato quinase; 3- piruvato formato liase; 4- acetaldeído desidrogenase; 5- etanol desidrogenase; 6- fosfo transacetilase; 7- acetato quinase; 8- α-acetolactato sintase; 9- α-acetolactato descarboxilase; 10- 2,3-butanodiol desidrogenase ou acetoína redutase; 11- lactato desidrogenase; 12- complexo formato-hidrogênio-liase. Adaptado de (PROVENZI, 2015).

3.2.4 Condições de operação

3.2.4.1 Aeração

O controle de oxigênio fornecido ao processo é uma das variáveis mais importantes para a produção de 2,3-BD, pois a maioria dos microrganismos utilizados no desenvolvimento de estudos são anaeróbios facultativos, ou seja, obtêm energia tanto via fermentação quanto via respiração. Assim, a disponibilidade de oxigênio necessária pela maioria das bactérias anaeróbias facultativas possui moderada limitação (CELIŃSKA; GRAJEK, 2009).

Entretanto, em ambientes de pouca aeração, classificados como microaeróbios, a limitação excessiva de oxigênio no meio pode impactar diretamente no crescimento celular do processo, predominando a formação de lactato e, conseqüentemente, diminuindo a produção de 2,3-BD, enquanto que seu aumento excessivo tende a favorecer a formação de massa celular e CO₂ ao invés de produzir o álcool desejado. Assim, quanto maior a aeração do

meio, menor será a sua produção, embora o declínio excessivo do fornecimento de oxigênio possa diminuir também a taxa de conversão total, devido a concentrações celulares mais baixas (BINOTTO, 2016; MACHADO, 2018).

A necessidade de aeração, além de contribuir com o rendimento e com a produtividade de 2,3-BD, pode minimizar a formação de subprodutos, como etanol, formato, acetato, lactato e acetoína, cuja presença pode dificultar a recuperação do 2,3-BD e, conseqüentemente, encarecer a etapa de processamento *downstream*. Além disso, esses subprodutos podem agir como inibidores da fermentação de 2,3-BD, comprometendo, novamente, a produção desse álcool. Assim, sob aeração controlada, o substrato pode ser majoritariamente convertido em 2,3-BD (NETO, 2017).

3.2.4.2 Temperatura

Durante a fermentação, a regulação da temperatura é extremamente importante, uma vez que está associada ao controle da atividade enzimática e à manutenção celular. Um intervalo adequado considerado para a fermentação microbiana se encontra na faixa de 30-37°C, considerando uma máxima conversão da fonte de carbono (HAKIZIMANA; MATABARO; LEE, 2020). Nessa faixa de temperatura, o produto de fermentação desejado pode ser produzido alternativamente por biomassa devido à mudança da condição aeróbia para microaeróbia. Acima da temperatura ótima, células e enzimas são degradadas e, conseqüentemente, torna o metabolismo e o 2,3-BD mínimos, enquanto que abaixo da temperatura ótima, a regulação e a taxa de metabolismo tendem a decair (MACHADO, 2018).

A temperatura ótima depende muito da cepa e do substrato usado para o cultivo. Por exemplo, a faixa de temperatura ótima para a bactéria *P. polymyxa* é de 37°C. Acima desse valor, a produção de 2,3-BD pode ser inviabilizada, em razão do comprometimento da atividade metabólica microbiana. Já, abaixo de 37°C, a produção de outros metabólicos pode ser favorecida em detrimento da produção de 2,3-BD, resultando em baixos valores de rendimento e produtividade (NETO, 2017). Por outro lado, a temperatura ideal para a bactéria *K. pneumoniae* foi selecionada em 33°C, enquanto para *E. aerogenes*, 39°C (HAKIZIMANA; MATABARO; LEE, 2020).

3.2.4.3 Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH do meio de cultura é outro fator crucial que influencia diretamente na produção de 2,3-BD, pois essa síntese metabólica ocorre em meio ácido. Muitos estudos têm apontado que a produção de 2,3-BD ocorre na faixa de pH de 4,5-9,0 com valor de pH ideal de 6,0. Porém, a condição ótima de pH depende diretamente do microrganismo e do substrato utilizado no processo produtivo (HAKIZIMANA; MATABARO; LEE, 2020).

As condições alcalinas do meio tendem a favorecer a formação de ácidos orgânicos, causando uma diminuição no rendimento de 2,3-BD desejado. Assim, a acidez da fermentação torna-se uma estratégia de defesa desenvolvida pelos microrganismos atuantes, a fim de diminuir a síntese de ácidos orgânicos em mais de 10 vezes e conseguir aumentar a síntese do diol de 3 a 7 vezes. Dessa maneira, alguns microrganismos desenvolveram estratégias defensivas, mudando seu metabolismo para a produção de compostos menos tóxicos, como

álcoois e glicóis. Um exemplo dessa estratégia é a geração de compostos neutros, como o 2,3-BD, que auxilia no controle do pH intracelular. O pH interno das células permite que as enzimas envolvidas no metabolismo do 2,3-BD passem a apresentar atividade de síntese, culminando, então, na produção desse composto (CELIŃSKA, GRAJEK, 2009; NETO, 2017).

A condição de pH do meio é responsável por fornecer condições favoráveis para uma assimilação eficiente da fonte de carbono pelos microrganismos atuantes. Isso permite que a fase exponencial seja logo alcançada e conseqüentemente gere uma significativa quantidade de biomassa celular. Além disso, o valor de pH também influencia nas rotas metabólicas preferenciais do meio, onde valores extremos de pH tendem a comprometer a atividade enzimática e conseqüente eficiência da produção de 2,3-BD (NETO, 2017).

3.2.4.4 Concentração de substratos

Uma grande variedade de carboidratos pode ser usada para a produção de 2,3-BD a partir da fermentação microbiana, particularmente utilizando bactérias e usando principalmente glicose como fonte de carbono. A fim de minimizar os custos de produção, substratos baratos e renováveis têm sido amplamente usados como fonte de carbono, como biomassas não-celulósicas e lignocelulósicas (HAKIZIMANA; MATABARO; LEE, 2020).

Os processos de produção de 2,3-BD reportados na literatura utilizam, na grande maioria das vezes, uma concentração inicial de açúcar como fonte de carbono na faixa entre 5,0 e 10,0% em massa. Baixas concentrações são preferíveis devido à inibição de atividade enzimática e metabólica que o excesso de substrato no meio de cultivo pode causar, podendo reduzir o crescimento celular, a produtividade de 2,3-BD e o aumento de substâncias tóxicas, como sulfatos, furfural e composto fenólicos. Essas substâncias estão associadas a substratos de fontes residuais, como hidrolisados da madeira, cuja concentração aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração da fonte de carbono no meio, por isso resíduos agroindustriais requerem uma etapa prévia de tratamento, que resulta na liberação dessas substâncias (BINOTTO, 2016; MACHADO, 2018).

No entanto, caso o substrato seja originado de uma fonte não-residual de carbono, o aumento da sua concentração inicial pode favorecer a concentração de 2,3-BD. Por exemplo, meios sintéticos suplementados com açúcares puros, tais como glicose, xilose e arabinose, não possuem compostos inibitórios, fazendo com que concentrações de até 200 g.L⁻¹ de açúcar possam ser fermentadas sem haver comprometimento do crescimento celular e das atividades metabólicas, melhorando o rendimento para a produção de 2,3-BD (PROVENZI, 2015). Porém, cada processo deve ser analisado de maneira independente, pois a produtividade de 2,3-BD depende diretamente das condições específicas de cultivo que serão propostas e, além disso, cada microrganismo possui uma capacidade limite para metabolizar as fontes de carbono disponíveis no processo (CELIŃSKA; GRAJEK, 2009).

3.2.5 Biomassas como substrato

Atualmente, há diversos e abundantes estoques de biomassas capazes de atuar como matéria-prima para a produção de 2,3-BD. Nos tópicos a seguir, serão relatadas algumas biomassas (Tabela 2) que podem ser utilizadas como substrato em biorrefinarias.

Tabela 2: Produção de 2,3-BD a partir de diferentes microrganismos, biomassas e condições de processo.

Microrganismo	Tipo de biomassa	Tipo de fermentação	2,3-BD			Referências
			Título (g.L ⁻¹)	Rendimento (g.g ⁻¹)	Produtividade [g.(L.h) ⁻¹]	
<i>B. velezensis</i> 5RB			18,1	0,799	0,36	
<i>B. toyonensis</i> 11RA			11-12	0,691	0,45	
<i>B. licheniformis</i> 24	Resíduos agroindustriais	Batelada	20,7	0,825	0,78	(PETROVA; PETLICHKA; PETROV, 2020)
<i>B. safensis</i> 14A			13,9	0,582	0,2	
<i>B. subtilis</i> 35			12,0	0,615	0,24	
<i>Enterobacter cloacae</i> SG1	Biomassa de dendê	SSF ¹	30,74	-	-	(HAZEENA <i>et al.</i> , 2019)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> KMK-05	Hidrolisado de palha de arroz	Batelada	11,54	0,384	0,48	(SARATALE; JUNG; OH, 2016)
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Hidrolisado de palha de milho	Contínua	18,80	0,313	1,13	(MA <i>et al.</i> , 2018)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Hidrolisado de casca de soja	SHF ²	21,9	0,30	0,40	(MACHADO, 2018)
<i>Pantoea aglomerans</i>			20,5	0,28	0,44	

¹ SSF: Sacarificação e fermentação simultâneas.² SHF: Sacarificação e fermentação separadas.

<i>K. pneumoniae</i> KMK05	Pó de núcleo de knaf	SHF	10,42	0,385	-	(SARATALE <i>et al.</i> , 2018)
<i>E. coli</i> W	Melaço de beterraba sacarina	Batelada alimentada com pouco oxigênio	68,0	-	4,5	(ERIAN; GIBISCH; PFLÜGL, 2018)
		Batelada alimentada	56,0	-	-	
<i>E. ludwigii</i>	Melaço da cana-de-açúcar	Batelada alimentada	50,6	0,31	-	(PSAKI <i>et al.</i> , 2019)
<i>S. cerevisiae</i>	Hidrolisado de mandioca	Batelada	81,2	0,305	1,89	(LEE; SEO, 2019)
		Batelada alimentada	132,0	0,324	1,92	
<i>Pantoea agglomerans</i> cepa BL1	Hidrolisado de casca de soja	Batelada	14,02	0,53	1,17	(OURIQUE <i>et al.</i> , 2020)
<i>Bactéria psicrófila</i> GAOF	Soro de leite em pó		5,3	0,42	-	(ALVAREZ-GUZMÁN; BALDERAS-HERNÁNDEZ; LEON-RODRIGUEZ, 2020)
	Hidrolisado de palha de trigo	Batelada	3,7	0,23	-	
	Melaço da cana-de-açúcar		4,4	0,24	-	
<i>E. cloacae</i>	Hidrolisado de sabugo de milho	SHF	52,5	0,42	0,88	(LING <i>et al.</i> , 2017)
<i>E. ludwigii</i>	Resíduo de frutas	Batelada alimentada	50,0	0,40	0,41	(LIAKOU <i>et al.</i> , 2018)
	Resíduo de vegetais		17,6	0,32	0,39	
<i>Enterobacter cloacae</i> TER1 BD 18	Glicerol residual	Batelada alimentada	41,44	0,48	-	(PRIYA; LAL, 2019)

3.2.5.1 Bagaço e melaço da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é a maior cultura de biomassa do mundo. Produzida comercialmente em mais de 100 países, com mais de 1,91 bilhões de toneladas produzidas em 2018, Brasil, Índia e China são seus maiores produtores (WHITE; VIATOR; WEBBER, 2020). Sendo assim, a cana-de-açúcar e seus resíduos, como bagaço e melaço, possuem potencial para atuar como matéria-prima para a geração de biocombustíveis e produtos químicos.

O hidrolisado do bagaço gerado após a extração do caldo do caule da cana-de-açúcar é um resíduo rico em conteúdo de celulose e hemicelulose (WHITE; VIATOR; WEBBER, 2020), sendo composto principalmente por glicose e xilose. A repressão catabólica de carbono é o principal desafio para a fermentação de açúcares misturados devido à utilização preferencial de glicose. Um exemplo de produção eficiente de 2,3-BD a partir da assimilação simultânea desses dois açúcares fermentescíveis foi descrita utilizando *E. aerogenes*, onde o bagaço de cana foi pré-tratado para melhorar a digestibilidade enzimática, resultando em um rendimento de 0,39 g.g⁻¹ de 2,3-BD (YANG; ZHANG, 2019).

O melaço de cana-de-açúcar também é visto como uma fonte promissora para biorrefinarias devido ao seu alto teor de sacarose e baixo preço, podendo ser gerados de 3 a 7 toneladas de melaço a partir de 100 toneladas de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.) (PSAKI *et al.*, 2019). Os autores destacam ainda em seu estudo fermentações em batelada com cepas de *Klebsiella oxytoca* e *E. aerogenes* usando melaço, na qual obteve-se produção de 2,3-BD de 118 g.L⁻¹ e 98,7 g.L⁻¹ respectivamente. Outro relato utilizando melaço da cana-de-açúcar como substrato foi feito por Alvarez *et al.* (2020) que através de fermentações em batelada com cepas da bactéria psicrófila GA0F da Antártica produziu 4,4 g.L⁻¹ de 2,3-BD com rendimento de 0,24 g.g⁻¹.

3.2.5.2 Casca de soja

A soja apresenta-se como um dos grãos mais relevantes no mercado atualmente, onde sua produção e seu consumo vêm crescendo em escala global (CAMPEÃO *et al.*, 2019). Sua produção mundial para a safra de 2018/2019 foi estimada em 354,54 milhões de toneladas, sendo o Brasil o maior produtor de soja do mundo, com 33,0% de toda a produção mundial, seguido dos Estados Unidos e da Argentina, com 32,85% e 15,8% da produção mundial respectivamente (AMAZONAS, 2018).

A produção de soja gera milhões de toneladas de casca, que é o principal subproduto gerado no processamento do grão, que pode ser utilizado como matéria-prima lignocelulósica em bioprocessos. A composição química da casca de soja pode variar de forma significativa, pois não há padrão na moagem das indústrias de soja, podendo conter em média 29-51% de celulose, 10-25% de hemicelulose, 1-9% de lignina e 9-14% de proteína, sendo essa fonte de açúcares fermentescíveis (COSTA, 2017).

Seu uso como substrato para a produção de 2,3-BD via fermentação mostra resultados interessantes. Machado. (2018) avaliou em seu estudo a produção de 2,3-BD a partir da fermentação de hidrolisados da casca de soja por duas enterobactérias isoladas, *Klebsiella pneumoniae* e *Pantoea agglomerans*, em frascos agitados a partir da Sacarificação e

fermentação separadas. A maior produção de 2,3-BD foi obtida por *K. pneumoniae*, com um valor de 21,9 g.L⁻¹. Os valores de rendimento não diferiram significativamente, ficando entre 0,40 g.g⁻¹ e 0,44 g.g⁻¹. O mesmo ocorreu com a produtividade, a qual variou de 0,22 g.(L.h)⁻¹ a 0,30 g.(L.h)⁻¹.

Ourique et al. (2020) investigaram o uso de hidrolisado de casca de soja como substrato em reatores em batelada pela bactéria *Pantoea agglomerans* cepa BL1. Através de um meio de cultivo contendo uma mistura de xilose, arabinose e glicose, os melhores resultados mostraram produção de até 14,02 g.L⁻¹ de 2,3-BD com rendimento de 0,53 g.g⁻¹ e uma produtividade de 1,17 g.(L.h)⁻¹.

3.2.5.3 Palha e sabugo de milho

A produção de milho é relativamente concentrada em poucos países, com destaque para os Estados Unidos e China, que juntos produzem mais de 600 milhões de toneladas de milho por ano (CONTINI *et al.*, 2019). Da cultura do milho, há a geração de resíduos do caule, folhas, sabugo e palha, onde esses possuem potencial como fonte de biomassa, em especial a palha de milho, por possuir alto teor de celulose (OTTO; FILHO; CORAÇÕES, 2019).

Ling et al. (2017) pesquisaram em seu estudo a valorização de glicose e xilose da biomassa de sabugo de milho pré-tratada com álcalis para a produção de 2,3-BD a partir do açúcar da hidrólise enzimática com a cepa fermentadora *E. cloacae*. Os resultados obtidos mostraram uma concentração máxima de 52,5 g.L⁻¹ de 2,3-BD com rendimento de 0,42 g.g⁻¹ e produtividade de 0,88 g.(L.h)⁻¹ em fermentação em batelada alimentada. Esse estudo abriu uma rota promissora para a aplicação simultânea de glicose e xilose para a produção desse diol de interesse.

Uma cepa não patogênica de *Paenibacillus polymyxa* também foi avaliada para a produção de (R-R)-2,3-BD a partir de hidrolisado de palha de milho em fermentação contínua, onde seu título, produtividade e rendimento alcançaram 18,80 g.L⁻¹, 1,13 g.(L.h)⁻¹ e 0,313 g.g⁻¹, respectivamente. Esses resultados sugeriram que o uso de hidrolisado lignocelulósico tem grande potencial para eliminar eficientemente a repressão do catabólito de carbono e tornar a produção de (R-R)-2,3-BD uma escala industrial (MA *et al.*, 2018). Outro estudo que relata a produção de 2,3-BD a partir da sabugo de milho, utilizou cepas de *K. oxytoca* ATCC 10370 que resultaram em uma concentração de 100 g.L⁻¹ de 2,3-BD em culturas descontínuas (CHENG *et al.*, 2010).

3.2.5.4 Casca e palha de arroz

A casca e a palha de arroz são outros subprodutos renováveis, fartos e prontamente disponíveis advindos da produção de arroz (*Oryza sativa* L.). A produção mundial de arroz para a safra de 2018/2019 foi estimada em 501,39 milhões de toneladas, sendo 7,48 milhões de toneladas produzidos no Brasil (JÚNIOR, 2019). Por isso, também é um interessante substrato renovável para biorrefinarias.

Hidrolisados de casca de arroz integral pré-tratados a partir de resíduos de produtos químicos de licor verde foram utilizados para a produção de 2,3-BD por *K. pneumoniae* KMK-

05 via fermentação em batelada, resultando numa produção de 11,54 g.L⁻¹, rendimento de 0,384 g.g⁻¹ de açúcar e produtividade 0,480 g.(L.h)⁻¹, respectivamente (SARATALE, G. D.; JUNG; OH, 2016).

Outro estudo que mostra a síntese de 2,3-BD a partir da celulose e da hemicelulose de palha de arroz, envolve a fermentação de três cepas isoladas: duas cepas de *Klebsiella sp.* e uma cepa de *Serratia sp.* Tanto a biomassa da celulose quanto a da hemicelulose de palha de arroz foram fermentadas com sucesso para o diol pelos isolados, com rendimentos entre 0,32 e 0,41 g.g⁻¹ (HUANG *et al.*, 2013).

3.2.5.5 Glicerol

Santos *et al.* (2020) relataram em seu estudo a produção de 2,3-BD a partir da fermentação do glicerol, evidenciando que se o glicerol for usado como substrato, 1,3-propanodiol é o principal produto para a maioria das cepas relatadas, enquanto 2,3-BD é um composto secundário produzido em pequenas concentrações. Porém, através de otimizações nos parâmetros do meio de cultura, como alterações no pH baseado no tipo de cepa utilizada, a produção de 2,3-BD pode ser aumentada significativamente. Dessa maneira, utilizando a cepa bacteriana de *S. marcescens* LQOB-SE6 como biocatalisador para a produção de 2,3-BD a partir da fermentação de resíduos de glicerol industrial como substrato, obteve-se resultados satisfatórios com rendimento de 0,30 g.g⁻¹ de 2,3-BD e produtividade de 0,13 g.(L.h)⁻¹.

A valorização eficiente de glicerol residual para a geração de 2,3-BD também foi avaliada por Priya e Lal. (2019) usando *Enterobacter cloacae* TERI BD 18 como biocatalisador. Esse pode crescer em resíduos com alta concentração de impurezas. Assim, alcançou-se a produção de 41,44 g.L⁻¹ de 2,3-BD com um rendimento de 0,48 g.g⁻¹ em uma fermentação em batelada alimentada em biorreator de 13 litros usando glicerol residual como fonte única de carbono.

3.2.5.6 Resíduos alimentares

Uma fonte não-celulósica emergente para a produção do diol em questão foi proposta por Liakou *et al.* (2018). Ameixas, maçãs e peras foram utilizadas para a produção do meio de fermentação via maceração sequencial, suspensão em água e centrifugação para coleta do sobrenadante. Também foi avaliado pelos autores a produção de açúcares a partir de vegetais, como brócolis, alface, feijão fresco, salada de milho, repolho, cenoura, pimenta e berinjela por meio de tratamento com ácido sulfúrico para a hidrólise da hemicelulose. Assim, a produção de 2,3-BD a partir do hidrolisado de resíduos vegetais foi feita por meio de culturas em batelada alimentada com cepas de *Enterobacter ludwigii*, chegando a uma concentração de 17,6 g.L⁻¹, e através da matéria-prima derivada das frutas, com as mesmas condições, obteve-se resultados de concentração de 50 g.L⁻¹ de 2,3-BD, rendimento de 0,4 g.g⁻¹ e produtividade de 0,41 g.(L.h)⁻¹, respectivamente.

Erian *et al.* (2020) relataram a utilização da biomassa derivada do melaço de beterraba a partir de fermentações em batelada alimentada utilizando *Vibrio natriegens*, onde chegou-se a títulos finais de diol de até 49,9 g.L⁻¹. Também por melaço de beterraba, mas através de culturas em batelada alimentada pulsada, Erian, Gibisch e Pflügl. (2018) produziram 56 g.L⁻¹ de 2,3-BD por cepas de *E. coli* W, com produtividade de 4,5 g.(L.h)⁻¹.

Outra matéria-prima interessante são resíduos de cachos vazios de frutos de palmeiras. Sathesh-Prabu, Kim e Kuk. (2020) demonstraram em seu estudo que cepas modificadas de *E. coli* produziram 11,0 g.L⁻¹ de 2,3-BD com um rendimento de 0,48 g.g⁻¹ a partir do hidrolisado de cachos vazios de frutos de palmeiras obtidos por hidrólise enzimática e pré-tratados termicamente com álcali. Sindhu et al. (2020) também propuseram utilização de resíduos de cozinha como matéria-prima adequada para a produção de 2,3-BD. A partir da linhagem *Enterobacter cloacae* SG1 atingiu-se uma concentração de 3,0 g.L⁻¹ de diol com produtividade de 0,03 g.(L.h)⁻¹.

3.2.5.7 Outros substratos

A produção microbiana de 2,3-BD também foi investigada por Lee e Seo. (2019) utilizando cepas modificadas de *S. cerevisiae* (YGo1_SDBN) por fermentação em batelada alimentada, onde comparou-se a produção do diol a partir somente de glicose como fonte de carbono e posteriormente somente hidrolisado de mandioca (132 g.L⁻¹). Os resultados foram bastante satisfatórios, com uma produtividade de 2,64 g.(L.h)⁻¹ e 1,92 g.(L.h)⁻¹ respectivamente, mostrando que a bioconversão de biomassa lignocelulósica pode ser aplicável à produção de biocombustíveis e bioquímicos em fermentações em grande escala.

Saratale et al. (2018) também mostraram que 2,3-BD pode ser obtido utilizando biomassas lignocelulósicas. O pó do núcleo de kenaf (*Hibiscus cannabinus* L., *Malvaceae*), uma planta de crescimento rápido, é capaz de produzir cerca de 15-20 toneladas de biomassa em peso seco por hectare, mostrando grande potencial para a geração de 2,3-BD, apesar de ainda não ser notavelmente explorada como matéria-prima. A partir do seu pré-tratamento com peróxido de cálcio e suplementações de sais orgânicos, a utilização de hidrolisados enzimáticos de pó do núcleo de kenaf pela cepa modificada *Klebsiella pneumoniae* KMK05 resultou em uma produção máxima de 10,42 g.L⁻¹ de 2,3-BD e rendimento de 0,385 g.g⁻¹, sendo considerado comparável com misturas de açúcares padrão.

Outro relatos utilizando diferentes fontes não-celulósicas como substrato foram investigados. Hazeena et al. (2019) relataram a utilização de óleo de dendê como fonte de carbono. O dendê é uma importante fonte de óleo vegetal, com geração anual de cerca de 83 milhões de toneladas de peso úmido de biomassa. Por possuir alto teor de carboidratos na forma de açúcares simples, os autores obtiveram resultados satisfatórios ao fermentá-lo simultaneamente com cepas bacterianas de *Enterobacter cloacae* sp. SG1, produzindo 30,74 g.L⁻¹ de 2,3-BD com 0,32 g.(L.h)⁻¹ de produtividade.

3.2.6 Recuperação e purificação de 2,3-butanodiol

A recuperação e a purificação são as últimas etapas do processo para que, de fato, seja obtido o produto 2,3-BD purificado. No entanto, apesar do seu potencial e confiabilidade como produto biocombustível e químico, há poucos estudos que abordam a viabilidade eficiente desse processo.

Após a primeira etapa do processo produtivo de 2,3-BD ser concluída, inicia-se a segunda etapa de processo *downstream*, que atualmente é o maior desafio para a produção do 2,3-BD. Essa etapa visa três objetivos:

- (i) Separação sólido-líquido, com remoção das células microbianas e das impurezas sólidas do caldo de fermentação, a partir de técnicas de filtração por membrana ou centrifugação de alta velocidade, onde é incluído também nessa etapa ajustes necessários de pH por base ou adição de floculantes ao caldo (SABRA et al., 2011);
- (ii) Remoção de impurezas e a recuperação primária de 2,3-BD do caldo de fermentação empregando técnicas de recuperação (DAI; LIU; XIU, 2015; SABRA et al., 2011), como tecnologias de extração, como extração por solvente, extração *salting-out*, extração reativa (HAIDER et al., 2018) e sistema aquoso bifásico (SILVA, 2020) e tecnologias por membranas, como pervaporação, nanofiltração, osmose reversa (DAI; LIU; XIU, 2015) e evaporação (HONG et al., 2019);
- (iii) Purificação final do 2,3-BD por destilação (DAI; LIU; XIU, 2015; SABRA et al., 2011).

Como já foi abordado nos tópicos anteriores, apesar do 2,3-BD possuir vantagens, como maior produtividade e menor toxicidade em relação aos organismos fermentadores de álcool, seu ponto de ebulição (177-182°C) maior que o da água (100°C) faz com que seja necessário muito consumo de energia para que a água seja removida do caldo de fermentação. Essa necessidade leva a altos custos de energia e de capital necessários para que concentrações relativamente pequenas do produto desejado seja recuperado, tendo em vista ainda sua baixa concentração no caldo fermentativo (HAIDER *et al.*, 2018). Estima-se que o custo do processo de recuperação do 2,3-BD seja superior a 50% do custo total da planta (HAIDER *et al.*, 2020), sendo assim, tecnologias mais aprimoradas são necessárias para que seja possível e vantajoso economicamente recuperar e purificar o 2,3-BD do processo.

Até o momento, a planta de leito móvel da empresa LanzaTech foi a única planta simulada e implementada comercialmente para a produção e desidratação de 2,3-BD e etanol anidro. Porém, apesar de inovadora, a planta ainda possui altas possibilidades de falhas durante sua operação, além de ter vida útil reduzida e altos custos de manutenção de seus equipamentos. Assim, as técnicas descritas para a recuperação primária do 2,3-BD estão sendo propostas como possíveis alternativas eficientes (HONG et al., 2019).

Lee et al. (2019) desenvolveram, pela primeira vez, um estudo do processo de separação contínua do 2,3-BD em suas frações estereoisômeras, 2,3-BD *meso* e 2,3-BD racêmico, com altas purezas e pequenas perdas a partir de um modelo do princípio de separação de leito móvel simulado, a fim de facilitar sua aplicação em uma separação em escala industrial. A partir dos parâmetros intrínsecos de adsorção e transferência de massa do 2,3-BD em adsorventes, foram feitos diversos experimentos de adsorção competitiva de 2,3-BD *meso* e 2,3-BD racêmico em um adsorvente devidamente selecionado, e seus parâmetros isotérmicos relevantes foram determinados. Os resultados experimentais mostraram-se eficientes, verificando-se que podem ser obtidas purezas superiores a 99,9% de 2,3-BD *meso* e 97% de 2,3-BD racêmico, mantendo suas perdas abaixo de 1%.

Além da complexidade e do alto custo para sua recuperação e purificação, empregar derivados de biomassa como substratos em processos produtivos podem ampliar a dificuldade no tratamento dos caldos fermentativos, especialmente em caldos derivados de

biomassa lignocelulósica, que contém grande quantidade de partículas sólidas de células e lignocelulose, as quais possuem alta densidade e viscosidade. Apesar dos métodos de centrifugação e filtração por membranas terem potencial para remover células e resíduos celulares do caldo de fermentação e serem amplamente difundidos na indústria, devido a menor demanda energética quando comparada a outros processos, deve-se dar atenção especial ao processo, pois a alta densidade e viscosidade do caldo fermentativo pode gerar incrustações e depósitos coloidais no método. Por isso, um estudo detalhado e aprofundado para o desenvolvimento dessas técnicas é necessário (SABRA *et al.*, 2011; SILVA, 2020).

Davey *et al.* (2016) investigaram pela primeira vez o estudo da recuperação de 2,3-BD de um caldo de fermentação gasoso a partir de membranas de nanofiltração e osmose reversa. Nanofiltração e osmose reversa são processos de membrana acionados por pressões adequadas para que seja possível a purificação e a concentração *downstream* de produtos de fermentação. Das três membranas testadas (NF270, NF90 e BW30), NF90 e BW30 exibiram os melhores resultados de purificação de 2,3-BD. Entretanto, a membrana NF90 exibiu incrustações irreversíveis na sua superfície áspera ligeiramente maiores em comparação com a BW30. Portanto, a membrana BW30 foi identificada como uma membrana adequada para concentrar 2,3-BD em um caldo de fermentação gasosa, tendo recuperação de 96,1%.

Os autores Davey *et al.* (2016) expõem que a recuperação de um produto a partir de uma membrana está correlacionada há diversos fatores, dentre eles o peso molecular da membrana, que é definido pelo fabricante, onde membranas mais densas tendem a recuperar mais o produto alvo do que membranas mais soltas. Outro critério de grande importância é o potencial de incrustações da membrana, que no estudo citado foi analisado de maneira a tentar sua reversão através de lavagens das membranas com água deionizada. Mudar o pH da solução também corrobora para melhor interação dos incrustantes com a membrana, pois há alteração do potencial zeta da sua superfície, alterando assim, a estabilidade das dispersões coloidais.

A extração líquido-líquido é um método que tem se mostrado próspero para processos de recuperação, devido a vantagens como facilidade de operação, escalonamento e baixo consumo de energia. Porém, a alta hidrofobicidade do 2,3-BD (que possui dois grupos hidroxila na molécula), contribui para sua difícil extração do caldo fermentativo caso sejam usados solventes como extratante, como por exemplo éter dietílico, acetato de etila, *n*-butanol ou álcool oleílico, o que pode contribuir para a formação de azeótropos com a água, chegando a gerar rendimentos inferiores a 80% em uma extração de estágio único (SABRA *et al.*, 2011).

Um método que sofre ampla influência do caráter hidrofílico do 2,3-BD é a técnica de pervaporação (SHAO; KUMAR, 2009). A pervaporação é estimada como uma opção promissora às tecnologias convencionais de uso intenso de energia, por ser econômica, ecológica e segura. Porém, seu processo consiste de uma separação por membrana envolvendo a vaporização parcial de uma mistura líquida através de uma membrana densa, cujo lado a jusante é geralmente mantido sob vácuo (SMITHA *et al.*, 2004). Dessa maneira, encontrar um material que possa ter afinidade adequada para se misturar com o 2,3-BD em relação à água torna-se difícil e muitas vezes não eficiente (SHAO; KUMAR, 2009).

No entanto, a implementação de métodos integrados para uma recuperação eficiente de 2,3-BD pode se tornar relevante para o processo. Um esquema de separação integrado baseado em extração com solvente e pervaporação foi proposto por Shao e Kumar. (2009) para a recuperação de 2,3-BD de um caldo de fermentação sintético. 1-butanol foi usado como solvente de extração e membrana de polidimetilsiloxano foi usada para a separação. Das três espécies contidas na fase orgânica (2,3-BD, 1-butanol e água), a água foi considerada a mais permeável na membrana, seguido pelo 1-butanol, o que sugere que a concentração e purificação do 2,3-BD como retentado da membrana pudesse ser o mais concentrado entre as três espécies. Os resultados da purificação do 2,3-BD a partir de operações em lote confirmaram a viabilidade dos métodos integrados, conferindo uma purificação de até 98% de 2,3-BD.

Silva (2020) apresentou pela primeira vez estudos sobre a extração em sistema aquoso bifásico combinado aos processos de separação por membranas, a fim de recuperar e purificar o 2,3-BD do caldo fermentativo. A extração por sistemas aquosos bifásicos constitui um fenômeno complexo e de minuciosa avaliação, onde os autores concluíram que sistemas formados por PEG (polietileno glicol)-sal para a extração de 2,3-BD seria eficiente. Dos sistemas de PEG-sal que foram avaliados, tal conclusão foi confirmada com resultados satisfatórios do sistema aquoso bifásico PEG 4000-fosfato, que atingiu uma recuperação de 94,2% de 2,3-BD na fase de fundo. Esse resultado pode ser explicado devido à maior afinidade do 2,3-BD pela fase polimérica do sistema aquoso bifásico, além do alto poder de solvatação do sal fosfato e a menor massa molar do PEG 4000, que pode ter interferido na viscosidade das fases e conseqüentemente na transferência de massa do 2,3-BD no sistema.

Na etapa seguinte, de purificação do 2,3-BD extraído do sistema aquoso bifásico, foram utilizadas diferentes propostas de separação por membranas, onde foram avaliados os desempenhos de permeação, seletividade e fluxo permeado. A membrana de nanofiltração NP010 apresentou melhor desempenho que a membrana de ultrafiltração UH004 na etapa de separação do 2,3-BD dos demais solutos presentes no sistema aquoso bifásico. Uma explicação para esse resultado pode ser atribuída a menor massa molar da membrana NP010 e também a outros fenômenos de interação entre soluto e membrana. A membrana BW30, utilizada na etapa de concentração do produto alvo, também mostrou resultados satisfatórios de alta seletividade e bom fluxo permeado. Assim, as membranas NP010 e BW30 são uma boa alternativa para a separação e concentração do 2,3-BD extraído de sistemas aquosos bifásicos (SILVA, 2020).

Outra alternativa que visa melhorar a eficiência da extração do produto desejado no caldo fermentativo é a extração *salting-out*, que consiste na mistura de um solvente hidrofílico e sal inorgânico com o caldo de fermentação que contém o 2,3-BD, formando duas fases aquosas. Os solventes hidrofílicos mais utilizados são solventes orgânicos e líquidos iônicos. Solventes orgânicos, apesar de serem comumente usados, são inflamáveis e combustíveis, por isso é fundamental aprimorar esse processo com produtos mais seguros, confiáveis e não poluentes. Na produção de produtos químicos de base biológica, os líquidos iônicos são muito utilizados para o pré-tratamento da lignocelulose, devido à sua excelente estabilidade térmica e química, pressão de vapor próxima de zero e altas interações de solvatação com compostos orgânicos e inorgânicos. Além disso, líquidos iônicos são capazes de formar sistemas bifásicos

aquosos com sais orgânicos ou inorgânicos, carboidratos e até mesmo aminoácidos (DAI *et al.*, 2018; SHAO; KUMAR, 2009).

Assim, Dai *et al.* (2018) propuseram o primeiro estudo para a recuperação de 2,3-BD de caldos de fermentação a partir de uma extração *salting-out* à base de líquidos iônicos de imidazólio. A partir de sete sistemas de sais líquidos iônicos e inorgânicos, as influências da temperatura e concentração de 2,3-BD na formação de fase foram determinadas usando dois sistemas de cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio ([C₄mim] [Cl] – K₂HPO₄) e 1-etil-3-metilimidazólio trifluorometanossulfonato ([C₂ mim] [CF₃SO₃] – K₂HPO₄). A recuperação de 2,3-BD e de líquido aniônico foi um dos objetivos do trabalho, resultando na recuperação de 95,7% de 2,3-BD e 99,5% de [C₂ mim] [CF₃SO₃] – K₂HPO₄ na fase superior.

Apesar do método de extração *salting-out* revelar-se eficiente para a recuperação de 2,3-BD, uma grande quantidade de sal inorgânico também é recuperada da solução, fazendo com que sua reutilização possa provocar queda na recuperação do 2,3-BD, que é o produto de interesse. Assim, a fim de evitar esse problema, Dai, Liu e Xiu. (2015) propuseram um estudo de extração *sugaring-out*, substituindo os sais inorgânicos do método *salting-out* por carboidratos, pois esse atua como substrato na maioria das fermentações, podendo ser reutilizado pelas bactérias fermentadoras após a extração. O sistema *t*-butanol/glicose/água foi selecionado para a operação, juntamente com glicose, caldo de fermentação contendo 2,3-BD e um sal, (NH₄)₂HPO₄, que foi adicionado ao sistema de extração, pois sal e açúcar competem com as moléculas de água e com o 2,3-BD, favorecendo a concentração de 2,3-BD na fase superior. Além disso, o sal (NH₄)₂HPO₄ pode atuar como complemento de fontes de fosfato e nitrogênio para a posterior reutilização da fase inferior. Assim, como resultados obteve-se a fase de fundo rica em glicose (80,4%) que foi reutilizada para fermentação de 2,3-BD após a remoção de solvente e 75,6% de 2,3-BD distribuído na fase superior.

Embora as abordagens acima citadas sejam estudadas como técnicas vantajosas e que tenham papéis importantes para processos de separação para a recuperação e purificação de 2,3-BD do caldo fermentativo, cada tecnologia possui problemas e limitações que tornam difícil sua aplicação em escala comercial, conforme mostrado na Tabela 3. Dessa maneira, a destilação ainda é uma tecnologia imprescindível de separação em processos industriais e suas vantagens a manterão como a principal separação nas indústrias de processo por um bom período de tempo. Sua aplicação propõe a remoção de grandes quantidades de água e/ou solvente no processamento posterior de biorrefinarias, com a capacidade de produzir produtos de alta pureza, permanecendo em uma aposta próspera para a purificação de orgânicos de alto ponto de ebulição, como o 2,3-BD, devido principalmente à sua facilidade de operação, desenvolvimento e maturidade da tecnologia se comparada às outras técnicas vigentes (DAVEY *et al.*, 2016; HAIDER *et al.*, 2018).

Entretanto, medidas inovadoras são necessárias para repensar o uso de energia na destilação e na indústria química, pois entre as operações intensivas em energia, a destilação sozinha é responsável por cerca de 40% da energia usada na indústria química (KISS; SMITH, 2020). Dessa maneira, no tópico seguinte serão abordados métodos de destilação integrados para a produção de 2,3-BD que podem trazer grandes benefícios em termos de eficiência do

processo, menos capital e custos operacionais, maior qualidade de produto, menos desperdício e maior segurança de processo (KISS; SMITH, 2020).

Tabela 3. Técnicas de separação e recuperação de 2,3-BD. Adaptado de (HAIDER et al., 2018).

Abordagem de separação	Problemas associados	Limitações
Pervaporação	O entupimento da membrana causa diminuição da eficiência no decorrer do tempo.	A seletividade da membrana é muito limitada devido à natureza hidrofílica do 2,3-BD.
Extração reativa	Condições ácidas homogêneas no reator. Recuperação de ácido.	Controle e manuseio de catalisador.
Extração líquido-líquido	Solvente faz azeótropos com água, necessitando de uma coluna extra para sua recuperação.	Pequeno coeficiente de distribuição e seletividade.
Extração <i>salting-out</i>	Problemas operacionais e de dimensionamento devido à adição de sal. A recuperação do sal é imprescindível e causa aumento de investimento de capital.	Controle e limitações operacionais.

3.2.6.1 Métodos integrados de destilação para a recuperação de 2,3-BD e validação econômica do processo

O alto preço de mercado do 2,3-BD (1,6 USD/kg) derivado do petróleo (PSAKI *et al.*, 2019) instiga o crescimento de biorrefinarias para o seu processamento a partir de biomassas, sendo que o desenvolvimento de técnicas de destilação são primordiais para garantir purezas e rendimentos suficientemente elevados e alta eficiência. Produtos *downstream* do 2,3-BD tem atualmente um mercado global potencial de aproximadamente 32 milhões de toneladas por ano, avaliado em cerca de 43 bilhões de dólares (HAIDER *et al.*, 2020; PSAKI *et al.*, 2019). Embora a destilação seja de longe a tecnologia de separação mais amplamente aplicada na indústria, devido a sua simplicidade e eficácia, sua principal desvantagem é a degradação inevitável da energia associada à diferença de temperatura entre os equipamentos de refrigeração e condensação presentes nela, o que leva a uma baixa eficiência termodinâmica geral de uma coluna de destilação, podendo essa eficiência, muitas vezes, ser abaixo de 10% (KISS; OLUJIĆ, 2014).

Assim, muitos pesquisadores têm se concentrado em desenvolver tecnologias integradas de destilação mais adequadas para seu funcionamento, pois a energia mínima necessária e o potencial de economia de uma coluna de destilação dependem diretamente das pressões de operação e amplitude de temperatura, que impactam diretamente no seu funcionamento. Métodos de membrana híbrida, colunas de parede divisória, destilação reativa, bomba de calor integrada, condensadores laterais, evaporadores e refeedores (HAIDER *et al.*, 2020; KISS; SMITH, 2020) são algumas opções propostas para melhorar a eficiência da destilação.

Uma análise econômica dessas estratégias é fortemente defendida para encontrar a configuração ideal com o custo anual total (CAT) mínimo que produza o produto específico de interesse. Tal tarefa não é trivial devido ao grande número de alternativas possíveis, que cresce exponencialmente com o número de componentes a serem separados. Assim, a otimização e a integração de calor (IC) de todos os graus de liberdade propostos em uma sequência de destilação são necessárias para o desenvolvimento de uma economia baseada em ações mais sustentáveis. A IC visa a integração das funções e etapas em um único estágio de processo, a fim de maximizar a eficiência energética de um projeto fazendo uso do próprio calor interno da coluna, levando a equipamentos compactos e aumento de eficiência geral (HONG *et al.*, 2019; KISS; SMITH, 2020). Geralmente, essa avaliação é preferida em escala industrial, a fim de determinar a real viabilidade da respectiva biorrefinaria (ANU *et al.*, 2020).

Diante do exposto, Haider *et al.* (2020) avaliaram em seu artigo o potencial econômico da eficiência energética de esquemas de purificação e recuperação de 2,3-BD de 99,0% e 90,0%, respectivamente, fundamentados na otimização da pressão e em uma abordagem de IC de colunas duplas e colunas de parede divisória, onde tomou-se como caso base para fins de comparação uma simulação de processo baseada em evaporador seguido de uma coluna de destilação convencional.

Em comparação com o caso base, cada configuração proposta ofereceu utilidades diferentes. A IC de colunas duplas assistidas por um evaporador através da otimização da pressão, usando vapor de média pressão ao invés de vapor de alta pressão, resultou em uma redução significativa no custo operacional, com uma economia de energia que variou entre 13-54,0%, além de uma redução do CAT de $4,52 \times 10^6$ dólares para $2,26 \times 10^6$ dólares. A posterior instalação de trocadores de calor agregou ainda mais na redução da carga térmica do sistema, apesar da consequência da adição de um pequeno custo extra para a instalação dos equipamentos. Entretanto, a economia obtida com o integrador de calor foi superior à do cenário base. Ademais, as maiores economias de CAT foram obtidas por meio da otimização da pressão seguida pela integração do calor, resultando em uma economia de 49,9% na configuração de coluna dupla assistida por evaporador em comparação com o caso base (HAIDER *et al.*, 2020).

Na coluna de destilação de parede divisória proposta para a substituição da coluna dupla e do projeto base, os principais componentes pesados foram recuperados através da evaporação do excesso de água. A IC necessária e a otimização de pressão também foram implementados para maior economia de energia. Os resultados listados na Tabela 4 expõem que o uso de colunas de parede divisória assistido por evaporador como um substituto para a coluna dupla pode fornecer uma alternativa eficaz para a destilação convencional, com custo operacional de $2,87 \times 10^6$ dólares e uma economia de CAT de 25,2%. Da mesma forma, a coluna de parede divisória assistida por ventilador reduz os custos anuais totais em 25% (HAIDER *et al.*, 2020).

Tabela 4. Comparação econômica das configurações propostas versus o caso base. Adaptada de (HAIDER *et al.*, 2020).

Modelo proposto	Custo de capital (\$ 10⁶)	Economia de custo de capital (%)	Custo operacional (\$ 10⁶)	Economia de custo operacional (%)	Custo anual total (\$10⁶)	Economia de custo anual total (%)
Caso base	1,585	-	3,995	-	4,52	-
Coluna dupla de destilação assistida por evaporador	1,61	-1,5	3,436	13,99	3,973	12,1
Coluna dupla de destilação assistida por evaporador (pressão otimizada)	1,063	32,9	2,355	4	2,71	40
IC- coluna dupla de destilação assistida por evaporador	1,87	-15,2	2,743	31,3	3,37	25,4
IC- coluna dupla de destilação assistida por evaporador (com pressão otimizada)	1,3	18	1,83	54,2	2,263	49,9
IC - coluna de parede divisória assistida por evaporador	1,54	2,8	2,87	28,2	3,38	25,2
IC - coluna de parede divisória assistida por ventilador integrado	1,91	-17	2,75	31,2	3,39	25

Hong et al. (2019) também propuseram em seu artigo novas configurações de destilação, a fim de avaliar economicamente a eficiência energética da produção de 2,3-BD do caldo fermentativo de cada processo, a partir de simulações de destilação híbrida e destilação assistida por evaporações múltiplas de efeito duplo, triplo, quádruplo, quádruplo, quádruplo e quádruplo, onde nessa última proposta também foi considerado um caso de IC para melhorar o desempenho das configurações. Uma coluna de destilação convencional foi considerada como caso base para fins de comparação e todas as simulações propostas foram selecionadas para atingir pureza de 99,0% de 2,3-BD e recuperação de 90,0%.

Os resultados na Tabela 5 mostram que os processos de destilação assistida por evaporação múltipla podem criar efeito sinérgico combinando o evaporador de múltiplos efeitos e os processos de destilação, indicando uma economia de custo de água de resfriamento, custo de vapor e custos operacionais totais de 5,6%, 15,0% e 14,9%, respectivamente, para a destilação assistida por evaporação de efeito duplo em comparação com uma coluna de destilação convencional. Conseqüentemente, uma economia de 12,3% pode ser obtida no CAT, além de ter sido estimada uma redução de 16,9% das emissões totais de dióxido de carbono emitidos para a atmosfera. As mesmas metodologias foram usadas para os outros casos de efeito triplo, quádruplo, quádruplo e quádruplo, resultando em uma redução de CAT de até 16,9%, 20,1%, 21,7% e 17,5%, respectivamente (HONG *et al.*, 2019).

Tabela 5. Comparações econômicas dos esquemas propostos versus o caso base. Adaptada de (HONG *et al.*, 2019).

	Coluna de destilação convencional	Destilação híbrida assistida por evaporação	Efeito duplo	Efeito triplo	Efeito quádruplo	Efeito quádruplo	Efeito sêxtuplo
Economia de energia no condensador (%)	-	-17,0	5,6	14,7	20,0	23,1	19,1
Economia de energia no refeedor (%)	-	-0,5	15,0	21,1	24,8	27,0	23,5
Custos operacionais totais (USD/ano)	7.355.087	7.408.699	6.260.655	5.813.946	5.539.173	5.419.138	5.633.607
Economia total de custos operacionais (%)	-	-0,7	14,9	21,0	24,7	26,9	23,4
Custos totais anuais (USD)	7.498.209	7.782.310	6.579.902	6.228.392	5.994.676	5.870.408	6.182.961
Economia total de custo anual (%)	-	-3,8	12,3	16,9	20,1	21,7	17,5
Emissões totais de CO ₂ (kg/ano)	33.645.085	32.876.690	27.960.869	26.067.324	24.886.478	24.375.854	25.328.669
Economia de emissões totais de CO ₂ (%)	-	2,3	16,9	22,5	26,0	27,6	24,7

Neste mesmo contexto, Haider et al. (2018) também avaliaram esquemas para a separação e purificação de 2,3-BD do caldo de fermentação a partir de um caso base de destilação convencional e considerando todas as simulações propostas selecionadas para atingir pureza de 99,0% de 2,3-BD e recuperação de 90,0%. Os autores propuseram quatro casos envolvendo coluna de destilação dupla, destilação assistida por evaporador, destilação à vácuo e destilação flash à vácuo, onde cada caso passou por uma sequência sistemática de etapas envolvendo a simulação, otimização e IC dos processos. Devido a alta demanda energética, uma vez que a faixa de temperatura de ebulição do 2,3-BD é maior que a da água, o produto alvo foi obrigatoriamente recuperado no fundo e a água do topo da coluna de destilação.

As IC nas simulações propostas desempenharam um papel vital na economia de energia do processo, porém foi obtida uma compensação entre economia de energia e custo de capital. Um aumento no investimento de capital surgiu devido à introdução de trocadores de calor, ventiladores e os requisitos de energia associados. A área do trocador de calor afetou fortemente o custo de capital, enquanto a economia de energia envolveu configurações no projeto (HAIDER *et al.*, 2018).

A Tabela 6 expõe as especificações de projeto com os resultados de todas as configurações propostas. Os casos 1.1, 1.2 e 4.1 resultaram em uma economia total de 21,5%, 55% e 61,2%, respectivamente. Enquanto os custos de capital nas três configurações foram quase iguais aos observados no caso base. Isso corrobora seu uso imprescindível nas indústrias. Ainda pode-se observar que os casos de IC nos casos 1.1 e 3.1 tiveram um custo de capital adicional, $1,242 \times 10^6$ \$/ano e $1,157 \times 10^6$ \$/ano, respectivamente, mas o efeito geral no CAT ainda foi positivo devido à maior recuperação de energia e menor CAT (HAIDER *et al.*, 2018).

Tabela 6. Especificações de projeto com resultados otimizados de todas as configurações propostas. Adaptado de (HAIDER *et al.*, 2018).

Parâmetros	Caso base	Integração de calor – caso base	Caso 1		Caso 1.1		Caso 1.2		Caso 2	Caso 2.1	Caso 3	Caso 3.1	Caso 4	Caso 4.1
			DC-1	DC-2	DC-1	DC-2	DC-1	DC-2						
Número de etapas	17	17	12	7	12	7	12	7	20	20	12	12	12	12
Bandeja para 2,3-BD	14	14							14	14	7	9	9	8
Estágio de alimentação	3	4	3	2	4	2	3	2	6	6	3	4	3	4
Razão molar de refluxo	0,0092	0,021	0,065	0,001	0,01	0,001	0,065	0,001	0,075	0,075	0,0023	0,0005	0,04	0,04
Trabalho do condensador (kW)	11.243	11375	11309	292	11462	292	5785	292	8947	7121	11545	11524	7529	130
Trabalho do refulvedor (kW)	12.966	11.640	12.923	293	11.647	293	7164	293	9001	6468	12452	11807	7578	3737
Diâmetro da coluna (m)	2,783	2,627	2,794	0,393	2,63	0,393	2,04	0,393	2,3	2,01	3,45	3,48	2,99	2,225
Custo de capital (10 ⁶ \$/ano)	1,091	1,039	1,074		1,242		1,058		0,932	1,006	1,047	1,157	0,974	1,077
Custo de energia (10 ⁶ \$/ano)	4,032	3,62	3,438		3,108		2,066		3,837	2.689	3,225	3,058	3,127	1,347
Custo anual total (10 ⁶ \$/ano)	4,395	3,967	3,678		3,451		2,418		4,148	3,024	3,574	3,444	3,4517	1,706
Economia de custo de capital (%)	-	4,8	1,5		-1,3		3		14,6	7,8	4	-6	10,7	1,3
Economia de custo de energia (%)	-	10,3	14,8		22,2		51		4,9	33,3	20	24,2	22,4	66,6
Economia de custo anual (%)	-	9,8	16,4		21,5		55		5,6	31,2	18,7	21,6	21,5	61,2

Caso 1: Coluna de destilação dupla.

Caso 1.1: Integração de calor (dois trocadores de calor) - Coluna de destilação dupla.

Caso 1.2: Integração de calor (um ventilador e um trocador de calor) - Coluna de destilação dupla.

Caso 2: Destilação assistida por evaporador.

Caso 2.1: Integração de calor - Destilação assistida por evaporador.

Caso 3: Destilação à vácuo.

Caso 3.1: Integração de calor - Destilação à vácuo.

Caso 4: Destilação flash à vácuo.

Caso 4.1: Integração de calor - Destilação flash à vácuo.

4 Conclusões e Trabalhos Futuros

Pode-se concluir que o 2,3-BD é um produto químico de grande valor e com potencial para substituir as diversas fontes fósseis que prevalecem atualmente. Seu papel fisiológico no metabolismo microbiano é essencial e desempenha amplas aplicações em diversos setores industriais.

Como a ênfase deste estudo foi revisar o desenvolvimento de biorrefinarias a partir de métodos eficazes, econômicos e ecologicamente corretos para produção de 2,3-BD de base biológica, a fim de reduzir impactos ambientais, sociais e econômicos vigentes, os resíduos de biomassas escolhidos como substratos certamente se destacaram como uma alternativa promissora, apresentando resultados significativos de concentração, rendimento e produtividade de 2,3-BD em caldos fermentativos. Além disso, pesquisas para sintetizar o 2,3-BD por diferentes microrganismos estão sendo cada vez mais aperfeiçoadas e avançando para resultados promissores, como o desenvolvimento de cepas geneticamente modificadas a fim de alcançar maiores rendimentos de produtos.

Apesar dos métodos vigentes utilizados para a recuperação e a purificação de 2,3-BD possuírem resultados interessantes e muitas vezes vantajosos, eles ainda possuem problemas e limitações que dificultam uma produção em escala comercial, sendo necessário maior aprimoramento e desenvolvimento das tecnologias. A partir das revisões retratadas, métodos integrados de destilação sugerem que a adição de operações unitárias ao processo de destilação de fato causa uma redução no consumo energético total do processo, mas não geram uma redução nos custos de capital, visto que trocadores de calor, ventiladores e requisitos de energia associados devem ser instalados a fim de produzir tal eficiência.

Diante deste cenário, torna-se clara a necessidade da determinação da viabilidade, da lucratividade e da otimização dos processos de uma biorrefinaria antes de sua implementação em larga escala, a fim de diminuir os custos de capital e de energia necessários para a separação do 2,3-BD do caldo fermentativo e agregar valor às cadeias produtivas. Pode-se por fim destacar que a realização de uma otimização adicional no processo de fermentação é conveniente, por exemplo, para reduzir a necessidade de vasta área de espaço físico para o processo, podendo também gerar uma vantagem para a redução de custos.

5 Referências bibliográficas

AGLIARDI, C. B. **Produção biotecnológica de 2,3-butanodiol a partir de diferentes fontes de carbono**. 2018. - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, [s. l.], 2018.

ALVAREZ-GUZMÁN, C. L.; BALDERAS-HERNÁNDEZ, V. E.; LEON-RODRIGUEZ, A. De. Coproduction of hydrogen, ethanol and 2,3-butanediol from agro-industrial residues by the Antarctic psychrophilic GAOF bacterium. **International Journal of Hydrogen Energy**, [s. l.], v. 5, p. 0–8, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.02.105>

AMAZONAS, L. **Análise Mensal de sojaConab**. [S. l.: s. n.], 2018.

ANITHA, M.; KAMARUDIN, S. K.; KOFLI, N. T. The potential of glycerol as a value-added commodity. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 295, p. 119–130, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.03.012>

ANTIKAINEN, R. *et al.* **Renewal of forest based manufacturing towards a sustainable circular bioeconomy**. [S. l.: s. n.], 2017. ISSN 1796-1726.*E-book*.

ANU *et al.* Multifarious pretreatment strategies for the lignocellulosic substrates for the generation of renewable and sustainable biofuels: A review. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 160, p. 1228–1252, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.07.031>

ARORA, A. *et al.* Nanobiotechnological advancements in lignocellulosic biomass pretreatment. **Materials Science for Energy Technologies**, [s. l.], v. 3, p. 308–318, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mset.2019.12.003>

ATTARD, T. M.; CLARK, J. H.; MCELROY, C. R. Recent developments in key biorefinery areas. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, [s. l.], v. 21, p. 64–74, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.12.002>

BINOTTO, N. **Seleção de potenciais microrganismos produtores de 2,3-butanodiol utilizando diferentes meios sintéticos**. 2016. [s. l.], 2016.

BORGES, M. de S. **AVALIAÇÃO DE BIOMASSAS RESIDUAIS PRODUZIDAS NO TOCANTINS COMO POTENCIAIS MATÉRIAS-PRIMAS PARA A BIORREFINARIA**. 2020. - Universidade Federal do Tocantins, [s. l.], 2020. Available at: <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>

BRAVO, B. **Prospecção Tecnológica da obtenção de ácido cítrico a partir do glicerol**. 2020. [s. l.], 2020.

CAMPEÃO, P. *et al.* Mercado Internacional de Commodities. [s. l.], p. 76–92, 2019.

CELIŃSKA, E.; GRAJEK, W. Biotechnological production of 2,3-butanediol-Current state and prospects. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 27, n. 6, p. 715–725, 2009. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.05.002>

CHENG, K. K. *et al.* Improved 2,3-butanediol production from corncob acid hydrolysate by fed-batch fermentation using *Klebsiella oxytoca*. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 45, n. 4, p. 613–616, 2010. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.12.009>

CONTINI, E. *et al.* **Milho-Characterização e Desafios Tecnológicos Embrapa**. [S. l.: s. n.], 2019. Available at: <https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v6i1.569>.

CORREIA, F. M. **Balanço Energético da Utilização de Kenaf na produção de energia e painéis isoladores , em Portugal**. 39 f. 2011. [s. l.], 2011.

COSTA, D. A. L. Caracterização parcial de Mananases produzidas por *Clonostachys byssicola* cultivado em Casca de Soja. [s. l.], p. 85, 2017.

CRISTÓBAL, J. *et al.* Techno-economic and profitability analysis of food waste biorefineries at European level. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 259, n. January, p. 244–252, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.016>

DAI, J. *et al.* Imidazolium ionic liquids-based salting-out extraction of 2,3-butanediol from fermentation broths. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 71, n. April, p. 175–181, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.05.015>

DAI, J. Y.; LIU, C. J.; XIU, Z. L. Sugaring-out extraction of 2,3-butanediol from fermentation broths. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 50, n. 11, p. 1951–1957, 2015. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.08.004>

DAI, L. *et al.* A review on selective production of value-added chemicals via catalytic pyrolysis of lignocellulosic biomass. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 749, p. 142386, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142386>

DAVEY, C. J. *et al.* Nanofiltration and reverse osmosis membranes for purification and concentration of a 2,3-butanediol producing gas fermentation broth. **Journal of Membrane Science**, [s. l.], v. 518, p. 150–158, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2016.06.044>

DENEYER, A.; ENNAERT, T.; SELS, B. F. Straightforward sustainability assessment of sugar-derived molecules from first-generation biomass. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, [s. l.], v. 10, p. 11–20, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.02.003>

ERIAN, A. M. *et al.* High rate 2,3-butanediol production with *Vibrio natriegens*. **Bioresource Technology Reports**, [s. l.], v. 10, n. January, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100408>

ERIAN, A. M.; GIBISCH, M.; PFLÜGL, S. Engineered E. coli W enables efficient 2,3-butanediol production from glucose and sugar beet molasses using defined minimal medium as economic basis 06 Biological Sciences 0605 Microbiology. **Microbial Cell Factories**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 1–17, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12934-018-1038-0>
FERNANDO, S. *et al.* Biorefineries: Current status, challenges, and future direction. **Energy and Fuels**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 1727–1737, 2006. Available at: <https://doi.org/10.1021/ef060097w>

FUESS, L. T. **BIODIGESTÃO ANAERÓBIA TERMOFÍLICA DE VINHAÇA EM SISTEMAS COMBINADOS DO TIPO ACIDOGÊNICO-METANOGÊNICO PARA POTENCIALIZAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE BIOENERGIA EM BIORREFINARIAS DE CANA-DE-AÇÚCAR DE PRIMEIRA GERAÇÃO** Tese apresentada à Escola de E. 2017. [s. l.], 2017.

HAGE, J. A. A. A Presença do Petróleo nos Estados Unidos: O Hidrocarboneto na História de uma Grande Potência. **Esboços: histórias em contextos globais**, [s. l.], v. 24, n. 38, p. 240–262, 2018. Available at: <https://doi.org/10.5007/2175-7976.2017v24n38p240>

HAIDER, J. *et al.* Purification step enhancement of the 2,3-butanediol production process through minimization of high pressure steam consumption. **Chemical Engineering Research and Design**, [s. l.], v. 153, p. 697–708, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2019.11.005>

HAIDER, J. *et al.* Techno-economic analysis of various process schemes for the production of fuel grade 2,3-butanediol from fermentation broth. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 140, n. April, p. 93–107, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.09.002>

HAKIZIMANA, O.; MATABARO, E.; LEE, B. H. The current strategies and parameters for the enhanced microbial production of 2,3-butanediol. **Biotechnology Reports**, [s. l.], v. 25, p. e00397, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00397>

HAZEENA, S. H. *et al.* Lignocellulosic bio-refinery approach for microbial 2,3-Butanediol production. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 302, n. November 2019, p. 122873, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122873>

HAZEENA, S. H. *et al.* Simultaneous saccharification and fermentation of oil palm front for the production of 2,3-butanediol. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 278, n. January, p. 145–149, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.042>

HONG, J. *et al.* Design and optimization of multi-effect-evaporation-assisted distillation configuration for recovery of 2,3-butanediol from fermentation broth. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, [s. l.], v. 136, n. September 2018, p. 107–115, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2019.01.002>

HUANG, C. F. *et al.* Method of 2,3-butanediol production from glycerol and acid-pretreated rice straw hydrolysate by newly isolated strains: Pre-evaluation as an integrated biorefinery

process. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 135, p. 446–453, 2013. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.141>

ISLAM, M. K. *et al.* Sustainability metrics of pretreatment processes in a waste derived lignocellulosic biomass biorefinery. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 298, n. December 2019, p. 122558, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122558>
JI, X. J.; HUANG, H.; OUYANG, P. K. Microbial 2,3-butanediol production: A state-of-the-art review. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 351–364, 2011. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.007>

JÚNIOR, S. R. G. dos S. **Análise mensal de arrozconab**. [S. l.: s. n.], 2019.

KIM, D. G. *et al.* Improved 2,3-butanediol yield and productivity from lignocellulose biomass hydrolysate in metabolically engineered *Enterobacter aerogenes*. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 309, n. April, p. 123386, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123386>

KISS, A. A.; OLUJIĆ, Ž. A review on process intensification in internally heat-integrated distillation columns. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, [s. l.], v. 86, p. 125–144, 2014. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2014.10.017>

KISS, A. A.; SMITH, R. Rethinking energy use in distillation processes for a more sustainable chemical industry. **Energy**, [s. l.], v. 203, p. 117788, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.117788>

KUCHARSKA, K. *et al.* Key issues in modeling and optimization of lignocellulosic biomass fermentative conversion to gaseous biofuels. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 129, p. 384–408, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.06.018>

KUMAR, B. *et al.* Current perspective on pretreatment technologies using lignocellulosic biomass: An emerging biorefinery concept. **Fuel Processing Technology**, [s. l.], v. 199, n. July 2019, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.106244>

KUMAR, L. R. *et al.* A review on variation in crude glycerol composition, bio-valorization of crude and purified glycerol as carbon source for lipid production. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 293, n. September, p. 122155, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122155>

LEE, C. G. *et al.* The first attempt at continuous-mode separation of racemic and meso-2,3-butanediol with high purities using a simulated-moving-bed process. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, [s. l.], v. 80, p. 677–685, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.08.046>

LEE, Y. G.; SEO, J. H. Production of 2,3-butanediol from glucose and cassava hydrolysates by metabolically engineered industrial polyploid *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology for**

Biofuels, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 1–12, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1545-1>

LIAKOU, V. *et al.* Valorisation of fruit and vegetable waste from open markets for the production of 2,3-butanediol. **Food and Bioproducts Processing**, [s. l.], v. 108, p. 27–36, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.10.004>

LIN, C. S. K. *et al.* **Food waste as a valuable resource for the production of chemicals, materials and fuels. Current situation and global perspective.** [S. l.: s. n.], 2013. ISSN 17545706.v. 6 Available at: <https://doi.org/10.1039/c2ee23440h>

MA, K. *et al.* Improvement of (R,R)-2,3-butanediol production from corn stover hydrolysate by cell recycling continuous fermentation. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 332, n. September 2017, p. 361–369, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.09.097>

MACHADO, J. **Produção biotecnológica de 2, 3-butanodiol a partir de hidrolisados de casca de soja.** 2018. [s. l.], 2018.

MARIOTTO, J. R. Produção de acetoína e 2, 3-butanodiol por *Bacillus polymyxa*. [s. l.], p. 77, 2007.

MENEZES, N. L. de. Nanuza Luíza de Menezes José Rubens Pirani Ana Maria Giulietti Jane Elisabeth Kraus Veronica Angyalossy Marcos Arduin. [s. l.], 2005.

MOO-YOUNG, M. **Comprehensive Biotechnology.** second edied. [S. l.: s. n.], 2011.

NETO, D. T. C. **PRODUÇÃO DE (2R,3R)-BUTANODIOL POR *Paenibacillus polymyxa* PM 3605 UTILIZANDO SUBSTRATOS ALTERNATIVOS COMO FONTES DE CARBONO.** 2017. [s. l.], 2017.

NIZAMI, A. S. *et al.* Waste biorefineries: Enabling circular economies in developing countries. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 241, p. 1101–1117, 2017. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.097>

OTTO, A.; FILHO, N.; CORAÇÕES, T. **BIOMASSA DE RESÍDUOS DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA BRASILEIRA DO CAFEIRO, MILHO E SOJA.** 0–80 f. 2019. [s. l.], 2019.

OURIQUE, L. J. *et al.* Bioreactor production of 2,3-butanediol by *Pantoea agglomerans* using soybean hull acid hydrolysate as substrate. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [s. l.], v. 43, n. 9, p. 1689–1701, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02362-0>

PALMEROS PARADA, M.; OSSEWEIJER, P.; POSADA DUQUE, J. A. Sustainable biorefineries, an analysis of practices for incorporating sustainability in biorefinery design. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 106, p. 105–123, 2017. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.052>

PETROVA, P.; PETLICHKA, S.; PETROV, K. New *Bacillus* spp. with potential for 2,3-butanediol production from biomass. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, [s. l.], v. 130, n. 1, p. 20–28, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2020.02.009>

PRIYA, A.; LAL, B. Efficient valorization of waste glycerol to 2,3-butanediol using *Enterobacter cloacae* TERI BD 18 as a biocatalyst. **Fuel**, [s. l.], v. 250, n. March, p. 292–305, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.03.146>

PROVENZI, P. **Avaliação do potencial de produção de 2, 3-butanodiol utilizando diferentes espécies de bactérias e fontes de carbono**. 60 f. 2015. [s. l.], 2015. Available at: <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/142188?show=full>

PSAKI, O. *et al.* Optimisation of 2,3-butanediol production by *Enterobacter ludwigii* using sugarcane molasses. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 152, n. August, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107370>

RAGAUSKAS, A. J. *et al.* The path forward for biofuels and biomaterials. **Science**, [s. l.], v. 311, n. 5760, p. 484–489, 2006. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1114736>

RODRIGUES, J. A. R. Do engenho a biorrefinaria. A usina de acucar como empreendimento industrial para a geracao de produtos bioquimicos e biocombustiveis. **Quimica Nova**, [s. l.], v. 34, n. 7, p. 1242–1254, 2011. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000700024>

SABRA, W. *et al.* **Microbial production of 2,3-butanediol**. Third Edited. [s. l.]: Elsevier, 2011. v. 3 Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64046-8.00153-1>

SANTOS, Darlison De A *et al.* Biocatalysis and Agricultural Biotechnology Butanediol production from glycerol and glucose by *Serratia marcescens* isolated from tropical peat soil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 26, n. March, p. 101615, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101615>

SANTOS, Darlison De Alexandria. **Produção de celulases por fungos de ambiente marinho e terrestre para uso na hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar e produção de 2,3-butanodiol pela bactéria *Serratia marcescens* a partir de glicose e glicerol**. 2017. [s. l.], 2017.

SANTOS, F. *et al.* Aproveitamento integral do nabo forrageiro (*Raphanus Sativus* L.) em processos de biorrefinaria Integral utilization of *Raphanus Sativus* L. in biorefinary processes. [s. l.], p. 374–393, 2018.

SARATALE, G. D.; JUNG, M. Y.; OH, M. K. Reutilization of green liquor chemicals for pretreatment of whole rice waste biomass and its application to 2,3-butanediol production. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 205, p. 90–96, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.028>

SARATALE, R. G. *et al.* Combined effect of inorganic salts with calcium peroxide pretreatment for kenaf core biomass and their utilization for 2,3-butanediol production. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 258, n. December 2017, p. 26–32, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.115>

SATHESH-PRABU, C.; KIM, D.; KUK, S. Bioresource Technology Metabolic engineering of Escherichia coli for 2, 3-butanediol production from cellulosic biomass by using glucose-inducible gene expression system. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 309, n. April, p. 123361, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123361>

SCHILLING, C. *et al.* Engineering of the 2,3-butanediol pathway of Paenibacillus polymyxa DSM 365. **Metabolic Engineering**, [s. l.], v. 61, n. June, p. 381–388, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2020.07.009>

SHAO, P.; KUMAR, A. Recovery of 2,3-butanediol from water by a solvent extraction and pervaporation separation scheme. **Journal of Membrane Science**, [s. l.], v. 329, n. 1–2, p. 160–168, 2009. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2008.12.033>

SILVA, D. B.; SOUZA, B. R. de; ANTERO, R. V. P. Produção biotecnológica de produtos de valor agregado utilizando glicerol residual proveniente da síntese de biodiesel. **Evidência - Ciência e Biotecnologia**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 63–86, 2017. Available at: <https://doi.org/10.18593/eba.v17i2.15411>

SILVA, F. L. **Extração e purificação de 2,3-butanodiol utilizando sistemas aquosos bifásicos e processos de separação por membranas**. 2020. - Universidade Federal de Santa Catarina, [s. l.], 2020. Available at: <https://doi.org/10.1155/2010/706872>

SINDHU, R. *et al.* Valorization of food and kitchen waste: An integrated strategy adopted for the production of poly-3-hydroxybutyrate, bioethanol, pectinase and 2, 3-butanediol. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 310, n. May, p. 123515, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123515>

SINGH, S. K. Biological treatment of plant biomass and factors affecting bioactivity. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 279, p. 123546, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123546>

SMITHA, B. *et al.* Separation of organic-organic mixtures by pervaporation - A review. **Journal of Membrane Science**, [s. l.], v. 241, n. 1, p. 1–21, 2004. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2004.03.042>

SONG, B. *et al.* Recent advances and challenges of inter-disciplinary biomass valorization by integrating hydrothermal and biological techniques. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 135, n. April 2020, p. 110370, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110370>

THAPA, L. P. *et al.* Metabolic engineering of *Enterobacter aerogenes* to improve the production of 2,3-butanediol. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 143, n. August 2018, p. 169–178, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.12.019>

UBANDO, A. T.; FELIX, C. B.; CHEN, W. Bioresource Technology Biorefineries in circular bioeconomy : A comprehensive review. [s. l.], v. 299, n. November 2019, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122585>

WHITE, P. M.; VIATOR, R. P.; WEBBER, C. L. Temporal and varietal variation in sugarcane post-harvest residue biomass yields and chemical composition. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 154, n. August 2019, p. 112616, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112616>

YAMAKAWA, C. K.; QIN, F.; MUSSATTO, S. I. Advances and opportunities in biomass conversion technologies and biorefineries for the development of a bio-based economy. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 119, n. February, p. 54–60, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.09.007>

YANG, Z.; ZHANG, Z. Recent advances on production of 2, 3-butanediol using engineered microbes. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 569–578, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.03.019>