



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



Bioprodução de compostos intermediários: Comparativo de processos e análise de alternativas biotecnológicas

Autor: Stéfano Rahmeier Marquette

Orientadora: Daniele Misturini Rossi

Porto Alegre, janeiro de 2018

Sumário

Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas	vii
Lista de Abreviaturas e Siglas	viii
1 Introdução	1
1.1 Objetivos Gerais	1
1.2 Objetivos Específicos	2
2 Revisão Bibliográfica	3
2.1 Bioprocessos para compostos intermediários	3
2.1.1 Situação da bioprodução de compostos intermediários	3
2.1.2 Compostos intermediários promissores	5
2.1.3 Ácido Succínico, 1,4-Butanodiol e 1,3-Propanodiol	6
2.2 Ácido Succínico	8
2.2.1 Microrganismos para fermentação de Ácido Succínico	8
2.2.2 Bioprocessos atuais	9
2.2.3 Comparativo com produção tradicional	12
2.2.4 Perspectivas tecnológicas	14
2.2.5 Perspectivas de mercado para o Brasil	14
2.3 1,4-Butanodiol	17
2.3.1 Desenvolvimento de bioprocessos	17
2.3.2 Alternativas tecnológicas	18
2.3.3 Tecnologia futura	20
2.3.4 Comparativo com o método tradicional	22
2.3.5 Mercado no Brasil	23
2.4 1,3-Propanodiol	25
2.4.1 Desenvolvimento e aprimoramento de bioprocessos	25
2.4.2 Alternativas tecnológicas atuais e para o futuro	27
2.4.3 Comparação com a rota química	30
2.4.4 Produção no Brasil	31
3 Conclusões	33
4 Referências	34

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente à minha família, que simplesmente não poderia ser maior fonte de apoio e conforto. À Marcella, pelo companheirismo diário, pela eventual consultoria e por me acompanhar até o outro lado do mundo. À minha orientadora Daniele, por ter me colocado na direção correta e pela paciência em ler e reler, corrigir e recorrer este trabalho. Aos meus colegas de curso, que ao longo destes anos tantas vezes me auxiliaram nas mais diversas disciplinas. E claro, também aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia Química, sempre atenciosos e competentes. A todos, minha mais profunda gratidão.

Resumo

Os processos biotecnológicos são relativamente recentes na indústria química, com seu principal emprego atualmente na produção de bioetanol. Mas há muito potencial para o desenvolvimento de rotas bioquímicas para obtenção de compostos intermediários; tanto de substâncias atualmente obtidas a partir de combustíveis fósseis, quanto de novos compostos que podem abrir rotas alternativas na produção dos mais diversos materiais. Este é um segmento cada vez mais explorado, mas cada composto intermediário apresenta seus desafios particulares para o desenvolvimento dos processos biotecnológicos, de forma que alguns já estão consolidados no mercado, enquanto outros parecem distantes da viabilidade. Este trabalho revisa o desenvolvimento de bioprocessos destes compostos intermediários dando ênfase a três em específico: ácido succínico, 1,4-butanodiol e 1,3-propanodiol. Serão avaliados os principais obstáculos que foram ou ainda precisam ser superados, o atual estágio de desenvolvimento e como ele se compara com a produção convencional, as rotas alternativas e as tecnologias e pesquisas mais promissoras. Também é realizada uma avaliação do potencial brasileiro de bioprodução destes. Observou-se que o ácido succínico possui o mais avançado bioprocessos, já superando a rota petroquímica, enquanto que o 1,4-butanodiol possui apenas uma rota biotecnológica desenvolvida e sua produção ainda está em estágios iniciais, mas é bastante promissora. O 1,3-propanodiol é naturalmente produzido, mas enfrenta dificuldades mercadológicas devido ao seu alto custo perto de outros compostos que podem substituí-lo. Nestes três casos, há redução de impacto ambiental com a bioprodução, mas apenas o ácido succínico apresenta clara vantagem em custos. O Brasil aparece como produtor em potencial, mas esbarra na fraca demanda interna para estes produtos, de forma que teria de competir como exportador.

Palavras-chave: biotecnologia, ácido succínico, 1,4-butanodiol, 1,3-propanodiol, compostos intermediários, fermentação

Lista de Figuras

Figura 2.1.1 - Compostos comerciais derivados do AS (adaptado de Werpy e Petersen, 2004).	7
Figura 2.2.1 - Cadeia de reações para a produção enzimática de AS pela <i>E. coli</i> selvagem e as reações que podem ser geneticamente eliminadas para otimização (adaptado de BIOAMBER, 2009 e MAU, 2007 apud Vaswani, 2010).	8
Figura 2.2.2 - Esquema simplificado da unidade de produção de AS da Myriant (adaptado de Shmorhun, 2015a).	9
Figura 2.2.3 - Demonstração do ciclo produtivo do AS pela <i>S. cerevisiae</i> geneticamente modificada (adaptado de Tweel, 2010).	11
Figura 2.2.4 - Comparação feita pela Reverdia entre o processo de cristalização direta e o baseado na fermentação bacteriana sob neutralização (adaptado de Smidt, 2011).	12
Figura 2.2.5 - Esquema da transformação de anidrido maleico em AS (adaptado de Vaswani, 2010).	13
Figura 2.2.6 - Projeção dos principais mercados para AS de 2016 a 2021 (adaptado de MAM, 2016).	16
Figura 2.3.1 - Sequência de reações enzimáticas para obtenção do BDO a partir do succinato e do alfa-cetoglutanato. As enzimas responsáveis por cada etapa estão numeradas: 1) 2-oxoglutarato descarboxilase; 2) succinil-CoA sintetase; 3) succinato CoA-dependente semialdeído desidrogenase; 4) 4-hidroxitirato desidrogenase; 5) 4-hidroxitiril-CoA transferase; 6) 4-hidroxitiril-CoA redutase; 7) álcool desidrogenase. As etapas 2 e 7 são as únicas que ocorrem naturalmente em <i>E. coli</i> (adaptado de Yim <i>et al.</i> , 2011).	17
Figura 2.3.2 - Esquema representativo da partição de sistema em rotas paralelas de utilização de substratos (adaptado de Liu e Lu, 2015).	19
Figura 2.3.3 - Esquema com as múltiplas reações para obtenção de glutamato, BDO e glutaconato a partir de diferentes fontes de carboidrato (adaptado de Tai <i>et al.</i> , 2016).	20
Figura 2.3.4 - Representação da sequência de reações enzimáticas para a obtenção do BDO a partir da xilose. As setas cinzas representam o caminho natural que foi interrompido pela remoção dos genes ligados às enzimas responsáveis pela reação indesejada. As setas laranjas correspondem às etapas artificialmente adicionadas pelos cientistas. As siglas representam os genes que foram alterados ou incluídos para que produzissem as enzimas desejadas (Wang <i>et al.</i> , 2017).	21
Figura 2.3.5 - Comparação do impacto ambiental para a produção de 1kg de BDO via fermentação e via método Reppe. Os critérios de comparação são: Mudança Climática (CC), Degradação de Ozônio (OD), Acidificação do Solo (TA), Eutrofização de Água Doce (FE), Eutrofização Marinha (ME), Formação de Oxidantes Fotoquímicos (POF), Formação de Material Particulado (PMF), Consumo de Água (WD) e Consumo Fóssil (FD).	23
Figura 2.3.6 - Distribuição global da capacidade produtiva do BDO. A América Latina não possui produção relevante do composto (MCGROUP, 2017).	24
Figura 2.4.1 - Esquema da conversão de glicerol em PDO e diversos outros subprodutos no metabolismo celular. As reações que levam ao PDO estão marcadas de cinza escuro, e o quadro sombreado representa o metabolismo aeróbico. Os quadros transparentes indicam as enzimas, cujos nomes estão abreviados. Abreviações: GDHt – glicerol desidratase; 1,3-PD DH – 1,3-propanodiol desidrogenase; GDH – glicerol desidrogenase; DHAK – diidroxiacetona cinase; DHA – diidroxiacetona; DHAP – diidroxiacetona fosfato; PEP – fosfoenolpiruvato; AAs – amino ácidos; <i>sn</i> -G-3-P – <i>sn</i> -glicerol-3-fosfato; TCA – ciclo do ácido tricarbóxico; PPP – via das pentoses-fosfato;	

LDH – lactato desidrogenase; ALDH – aldeído desidrogenase; ADH – álcool desidrogenase; BDH – 2,3-butanodiol desidrogenase (adaptado de Celinska, 2010).....26

Figura 2.4.2 - Representação das reações químicas para produção do PDO a partir de acroleína e óxido de eteno (adaptado de Haas *et al.*, 2005).30

Lista de Tabelas

Tabela 2.2.1 – Agente de neutralização e principal processo de recuperação empregado pelas quatro principais produtoras de Bio-AS, além dos respectivos microrganismos que realizam a fermentação.12

Tabela 2.2.2 – Comparação entre bioprodução de AS e a produção tradicional com base em anidrido maleico, com base nos dados apresentados por Pinazo et al. (2015). Exclui-se os dados referentes ao uso de grão de sorgo de segunda geração para a bioprodução.13

Lista de Abreviaturas e Siglas

2,3-BDO	2,3-Butanodiol
1,2,4-BTO	1,2,4-Butanotriol
3-HPA	3-Hidroxiopropionaldeído
ABIQUIM	Associação Brasileira da Indústria Química
AS	Ácido Succínico
ATP	Adenosina Trifosfato
CoA	Coenzima A
BDO	1,4-Butanodiol
GBL	gama-Butirolactona
PBS	Polibutileno Succinato
PBT	Polibutileno Tereftalato
PDO	1,3-Propanodiol
PET	Polietileno Tereftalato
PTT	Politrimetileno Tereftalato
TCA	Ciclo do Ácido Tricarboxílico
THF	Tetraidrofurano

1 Introdução

A produção por rota biotecnológica é uma realidade na indústria e um setor que ainda tem muito a ser explorado. O principal incentivo para que maiores investimentos em bioprodução de compostos químicos essenciais fossem realizados era o alto valor do petróleo, que acabava por afetar toda a cadeia produtiva. O preço do petróleo reduziu nos últimos anos, a exploração de gás de xisto (especialmente nos Estados Unidos) e a intensificação do uso de gás de síntese deram novo fôlego para a indústria petroquímica, mas a biotecnologia mostra-se tão promissora que em alguns casos consegue ser tão ou mais competitiva. E os combustíveis fósseis, por mais que se busque melhores formas de aproveitá-los, são finitos, fazendo com que a biotecnologia seja cada vez mais relevante para sustentar a indústria.

Uma maior independência da exploração de petróleo é apenas uma das vantagens. A utilização da biomassa geralmente resulta em menor impacto ambiental e ainda pode dar destino aos resíduos orgânicos abundantes. Além de biomassa lignocelulósica, o Brasil tem grande potencial na geração de glicerol, especialmente com a crescente produção de biodiesel, que em 2017 deve ficar em torno de 70% maior do que a produção de 2010 (ABIOVE, 2017). No longo prazo, o desenvolvimento de bioprocessos mais eficientes e adaptados ao uso da biomassa residual local poderia impulsionar um novo setor na indústria do país.

Devido à grande quantidade de compostos diferentes que estão sendo estudados nesta área, este trabalho fará uma breve introdução à situação geral da bioprodução de intermediários para, então, focar a pesquisa no ácido succínico (AS), 1,4-butanodiol (BDO) e 1,3-propanodiol (PDO). Compostos intermediários são aqueles que são produzidos com o intuito de servirem como matéria-prima para outros processos industriais, mesmo que sua aplicação não se limite exclusivamente a este propósito. Estas três substâncias dão origem a produtos importantes da indústria, competem em mercados diversificados e possuem ampla bibliografia quanto ao desenvolvimento de bioprodução direta utilizando biomassa; porém, apresentam diferentes características e desafios.

Nesta revisão, também será realizada uma comparação destes relativamente recentes processos biotecnológicos com a produção tradicional, que é realizado através da rota petroquímica, para analisar os possíveis ganhos, seja em eficiência produtiva, seja no aspecto ambiental. Para isso, serão revisadas as análises de impacto ambiental do ciclo produtivo já disponíveis na literatura e será levado em consideração questões como o uso de substâncias tóxicas e complexidade de processo.

O levantamento dos procedimentos para desenvolver os métodos atuais de bioprodução, assim como as suas alternativas tecnológicas, nos permitirá conhecer os principais obstáculos e as melhores vias para o aprimoramento da biotecnologia aplicada a estes compostos. Com isso, serão apresentadas propostas em desenvolvimento que julga-se serem mais promissoras, tendo como critério a capacidade de superar ditos obstáculos e de utilizar de forma mais eficiente matéria-prima biomássica de baixo custo. Por fim, será avaliado o potencial de produção por rota biotecnológica destes compostos no Brasil, considerando a demanda local pelo material e a capacidade de penetração no mercado.

1.1 Objetivos Gerais

Este trabalho busca revisar os principais processos de bioprodução de compostos intermediários, elucidando os empecilhos e as soluções encontradas e analisando a capacidade de

inserção destes bioprocessos no mercado em comparação com a produção convencional. Será dado foco em três compostos em específico: AS, BDO e PDO.

1.2 Objetivos Específicos

- Situar o atual estágio de produção de compostos intermediários via biotecnologia;
- Revisar o desenvolvimento dos bioprocessos utilizados pela indústria química para obtenção dos três compostos em questão, identificando os problemas e as soluções relatados na literatura;
- Comparar os bioprocessos com a produção convencional em termos de impacto ambiental, complexidade e custos, quando possível;
- Identificar alternativas e linhas de pesquisa promissoras para a bioprodução;
- Analisar a possibilidade de produção com base em biomassa destes compostos intermediários no Brasil.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Bioprocessos para compostos intermediários

2.1.1 Situação da bioprodução de compostos intermediários

A produção de intermediários químicos por via biotecnológica tem sido alvo de crescente interesse na indústria por reunir algumas grandes vantagens. Apresenta a capacidade de resguardo da volatilidade do preço do petróleo, abre a possibilidade para novos processos mais eficientes, vai ao encontro da agenda ecológica de sustentabilidade e pode dar destino a uma vasta gama de resíduos de biomassa. Não surpreendentemente, a literatura a respeito dos processos metabólicos e industriais para produção comercial é bastante recente, mas cada vez mais rica.

Haveren *et al.* (2008) consideram a biomassa como a única fonte confiável da indústria química no longo prazo, o qual foi um dos motivos que os levaram a realizar uma análise da produção por rota biotecnológica de compostos intermediários idênticos aos tradicionais. Sua visão da derrocada dos combustíveis fósseis pode demorar mais que o esperado, graças aos avanços na extração de gás de xisto e na produção de gás de síntese a partir do carvão, mas ainda assim são recursos destinados ao esgotamento. Assim, a biomassa, e especialmente a lignocelulósica (que segundo os autores pode representar até 75% da biomassa total), poderia ser a fonte de todos ou quase todos os compostos básicos e intermediários atuais.

Sua análise se inicia com o eteno, que pode ser facilmente obtido através da desidratação do bioetanol, que por sua vez possui produção crescente. Não há limitações tecnológicas, apenas de custo, pois a produção é baseada mais na fermentação da glicose do que da lignocelulose, o que poderia ser menos oneroso. Mesmo assim, o polietileno feito a partir do bioetanol já é uma realidade, sendo inclusive produzido pela empresa Braskem, mas o grupo de Haveren (2008) destaca que a partir do bio-etileno existe também a possibilidade da produção de bio-PVC, que, assim como o polietileno, é um dos termoplásticos mais utilizados no mundo.

Outro composto básico de grande utilidade e potencial é o propileno, que é naturalmente metabolizado por uma ampla gama de espécimes, mas em quantidades tão reduzidas que Haveren e colaboradores (2008) vislumbram produção via biotecnologia deste composto provavelmente após 2040. A maior possibilidade é que o bio-propileno seja proveniente do propanol advindo de bio-1,2-propanodiol ou redução de acetona, butanol e etanol obtidos da fermentação.

A produção de glicóis como o 1,2-propanodiol e PDO são de grande relevância, mas seu desenvolvimento a partir de rotas biotecnológicas concorre não apenas com a rota petroquímica como também com processos termoquímicos de conversão de compostos provenientes de biomassa – apesar de que o PDO já é metabolizado com sucesso (Haveren *et al.*, 2008). O 2,3-butanodiol (2,3-BDO) é outro composto mencionado no artigo de Haveren e colaboradores (2008) de interesse para a indústria e cuja bioprodução é promissora e em desenvolvimento desde o início dos anos 2000.

É interessante notar que neste estudo publicado em 2008 sobre a produção a partir de biomassa há pouco foco na rota biotecnológica direta. Isto é, a perspectiva do período era a obtenção de bio-compostos através de processos termoquímicos de derivados básicos de biomassa e de glicerol (como a hidrogenólise catalítica para produção de propanodiol), enquanto que a utilização de microrganismos capazes de transformar diretamente para os produtos intermediários é citada apenas no caso do PDO e do 2,3-BDO. A possibilidade de fermentação para produção de BDO ou AS sequer é levantada, demonstrando que esta biotecnologia avançou rapidamente nos últimos dez anos.

Erickson e colaboradores (2012) publicaram outra avaliação do então estado da biotecnologia para produção de compostos básicos e intermediários. O ácido lático e o PDO, produzidos principalmente por Ingeo e DuPont, e o hidroxialcanoato da Metabolix são exemplos de sucesso da biotecnologia, e a este pequeno grupo podemos incluir o AS. Os autores contribuem ao demonstrar que, apesar da crescente consciência ambiental dos consumidores, a questão da economia e da performance do produto são tão ou mais importantes para a continuidade dos projetos de bioprodução. Nesse aspecto, assegurar crescentes fontes de biomassa a baixos custos, reduzir o custo do processo de conversão e utilização desta biomassa no investimento e obter produtos de performance igual ou melhor que os de base petroquímica são essenciais. É possível adicionar que, até o momento, continua-se buscando processos mais eficientes para utilização da lignocelulose e aparenta ser este um dos empecilhos tecnológicos e econômicos para um grande salto no segmento.

Neste mesmo artigo, os autores ainda citam uma lista de compostos cujos processos biotecnológicos iniciaram recentemente e são, relativo ao momento da publicação, promissores no médio prazo: ácido acético, isobutanol, isopreno, BDO e AS; sendo que estes dois últimos serão analisados com mais profundidade ao longo deste trabalho. De fato, enquanto a produção do bio-BDO ainda é muito incipiente, já em 2010 a produção de bio-AS tornou-se equivalente à derivada de combustíveis fósseis (Pinazo *et al.*, 2015) e tem crescido desde então. Os autores também comentam que a pesquisa nesta área está muito focada em obter compostos idênticos aos tradicionais, e que existe uma via diferenciada a ser desenvolvida de substâncias de alto valor agregado, mas baixa demanda por volume, além de compostos ainda não explorados na indústria.

Como os processos de recuperação dos produtos já são amplamente conhecidos, as pesquisas nesta área são voltadas para o desenvolvimento de rotas metabólicas eficientes, microrganismos mais capazes e para melhor aproveitamento de substratos. O processo para obtenção destas novas rotas consiste em três passos: previsão, seleção e ranqueamento dos caminhos metabólicos; identificação de enzimas para complementar estes caminhos; adaptação e otimização do microrganismo para o metabolismo construído (Shin *et al.*, 2013). Devido à complexidade e à quantidade de reações e processos disponíveis para serem averiguados, além das características de inúmeras enzimas disponíveis, o processo de previsão é realizado com o uso de softwares específicos, e o procedimento de alteração genética não será o foco deste estudo, mas sim seus resultados práticos.

Em geral, o processo escolhido de fermentação é anaeróbico ou, no máximo, microaeróbico, pois existem ganhos muito superiores em produtividade e taxa de conversão quando comparado com a via aeróbica. O processo respiratório é mais apropriado para geração de energia e, assim, favorece o crescimento celular em detrimento da produtividade dos compostos desejados, além de também ter custos inerentes na oxigenação e no resfriamento. Isso não significa que processos aeróbicos sejam inviáveis: a metabolização de PDO e ácido glicônico na presença de oxigênio pode ser realizada em nível comercial e de forma competitiva (Weusthuis *et al.*, 2011).

Visando o aprimoramento da bioconversão para produção em massa, Weusthuis *et al.* (2011) estudaram a possibilidade de transformar processos aeróbicos em anaeróbicos, obtendo assim os benefícios da maior produtividade e eficiência da fermentação. A viabilidade da produção sem oxigênio (ou com consumo reduzido) depende do nível de redução do produto e da quantidade de adenosina trifosfato (ATP) necessária, de forma que pode-se contornar a necessidade de oxigênio ao manter um equilíbrio de oxidação e redução e ao fornecer fontes alternativas de ATP. Isto pode ser obtido, segundo os pesquisadores, utilizando-se substratos em um estado de maior redução (ou oxidação) que os açúcares usuais, ou adicionando co-substratos que possam servir como doadores de elétrons quando a metabolização do produto gerar um *déficit* eletrônico. Weusthuis e

colaboradores admitem que estas medidas podem não ser suficientes, e que a manipulação genética para que ocorra regeneração de NADPH pode ser necessária.

2.1.2 Compostos intermediários promissores

Mais recentemente, Becker *et al.* (2015) revisaram a produção de ácidos orgânicos por fontes renováveis. Do estudo, concluiu-se que o bio-ácido glicólico é bastante promissor, pois sua produção atual é inferior a 10% do tamanho de mercado estimado e sua biossíntese foi alcançada em pelo menos quatro cepas de microrganismos diferentes, incluindo a amplamente utilizada *Escherichia coli*. Aprimoramentos para a produção em escala comercial ainda são necessários, e estão sendo perseguidos pelas empresas Metabolic Explorer e Roquette. Ácido pirúvico, naturalmente presente no metabolismo microbiano e com produção química pouco eficiente, já é obtido em altas concentrações por algumas espécies, mas ainda sem produção comercial.

O ácido 3-hidroxi propiônico é considerado como de grande potencial, mas sua produção por biomassa ainda é incipiente, apesar de mais de dez anos de pesquisa. Sua principal fonte é o glicerol, o que é muito relevante se considerarmos a situação de crescente oferta devido ao biodiesel. Outro composto com mercado em crescimento é o ácido itacônico, que pode na década de 2020 superar as 400 mil toneladas anuais e já possui base biotecnológica consolidada, sendo obtido a partir da fermentação com fungo do gênero *Aspergillus*. Porém, o processo precisa de aprimoramentos para elevar eficiência e produtividade (Becker *et al.*, 2015).

Utilizado na síntese de poliésteres, plásticos e vidro artificial, além de outras aplicações diversas, o ácido itacônico ainda está nos estágios iniciais de penetração no mercado. Estimativas mais otimistas, porém, calculam que no cenário ideal a demanda global possa superar as 3,2 milhões de toneladas anuais no longo prazo (Becker *et al.*, 2015). Atualmente, mais de 80 mil toneladas da substância são produzidas através da fermentação com *Aspergillus terreus*, em um processo que já vem sendo aprimorado desde a década de 1960 (Okabe *et al.*, 2009).

Nos últimos anos, importantes avanços foram obtidos na bioprodução de 2,3-BDO, graças a alterações genéticas que reduziram a metabolização de produtos secundários, assim elevando a produtividade. O composto é precursor do aditivo combustível metil-etil-cetona e outros derivados que, somados, podem representar até 32 milhões de toneladas anuais (Kim *et al.*, 2017). Ele é resultado da fermentação de diversos microrganismos, de gêneros como *Klebsiella*, *Bacillus* e *Enterobacter*, e diferentes espécies têm sido alvo de estudos para a bioprodução desde o final da década de 1990. Mas modificações genéticas em cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, um dos microrganismos mais utilizados na bioengenharia, conseguiram eliminar ou diminuir os entraves para a produção eficiente do 2,3-BDO.

Mas ainda existe um caminho muito longo a ser percorrido até que a biotecnologia consiga substituir a maior parte dos processos petroquímicos. Um dos polímeros mais consumidos no mundo, a poliamida (em suas diferentes formas), poderia ser obtida através de diaminas metabolizadas de fontes renováveis. De acordo com Chung *et al.* (2015), a produção de diaminas essenciais para a poliamida-4,10 e poliamida-5,10 já foi alcançada por rota metabólica, mas a diamina mais requisitada e consumida (1,6-hexanodiamina) ainda está longe de ser uma realidade nas biorrefinarias, assim como o ácido tereftálico para a formação de resina polietileno tereftalato (PET). O desenvolvimento de um bioprocessos para substituir a produção petroquímica pode levar vários anos, e a quantidade de compostos atualmente utilizados (e que virão a ser empregados no futuro) nos dá a dimensão da dificuldade de se obter uma indústria química amplamente baseada na biotecnologia; mas os significativos avanços obtidos nas últimas décadas e os numerosos grupos de pesquisas envolvidos nos parecem descrever um segmento promissor.

2.1.3 *Ácido Succínico, 1,4-Butanodiol e 1,3-Propanodiol*

Entre diversos compostos, podemos destacar três que apresentam diferentes desafios, avanços recentes e mercados promissores. O AS, cuja bioprodução é alvo de interesse de empresas do mundo todo; o BDO, que recentemente inaugurou sua primeira biorrefinaria; e o PDO, que ainda tenta alcançar melhor competitividade junto ao consumidor final.

A californiana Genomatica é a responsável pelo desenvolvimento do mais eficiente processo de produção em escala comercial do BDO a partir de biomassa. A empresa realizou uma parceria com a italiana Novamont, cedendo sua tecnologia proprietária para que fosse construída em 2016 a primeira planta de bio-based BDO, e uma parceria semelhante também foi acordada em 2013 com a Basf, mas a unidade exclusiva ainda não tornou-se realidade.

O mercado de BDO é de tamanho considerável. Em 2016 alcançou quase quatro milhões de toneladas e deve chegar a quase cinco milhões em 2021 (RNR, 2017), sendo um intermediário para compostos amplamente utilizados na indústria. Entre os mais conhecidos está o polibutileno tereftalato (PBT), muito usado no segmento automotivo e construção civil, e o tetraidrofurano (THF). Mesmo assim, a produção ainda se dá quase que exclusivamente a partir de combustíveis fósseis, com a biorrefinaria da Novamont possuindo capacidade para apenas 30 mil toneladas anuais.

AS, nome mais popular do ácido butanodióico, é um composto intermediário que pode ser empregado em diversos segmentos de mercado; desde o setor alimentício até o de limpeza e construção civil. Considerado uma substância sem riscos pela agência americana de alimentos e fármacos (FDA) e pela Anvisa, o AS é um acidulante empregado em alimentos de sabor delicado, e tem uma participação importante no segmento apesar de ser mais caro que outros acidulantes.

Diferentes polímeros empregados no setor automotivo podem ter sua origem no AS, pois a partir do mesmo é possível sintetizar o BDO, e polímeros biodegradáveis como o polibutileno succinato (PBS) também podem ter o AS como matéria-prima. Estima-se que o mercado de aplicações possíveis do composto tem potencial para superar os dez bilhões de dólares (NOVOMER, 2017). Entre outras aplicações, o AS também pode ser empregado na produção de poliuretanos e como um plastificante livre de ftalatos, que por sua vez pode ser utilizado em brinquedos e embalagens para alimentos. A Figura 2.1.1 demonstra compostos que podem ter origem no AS.

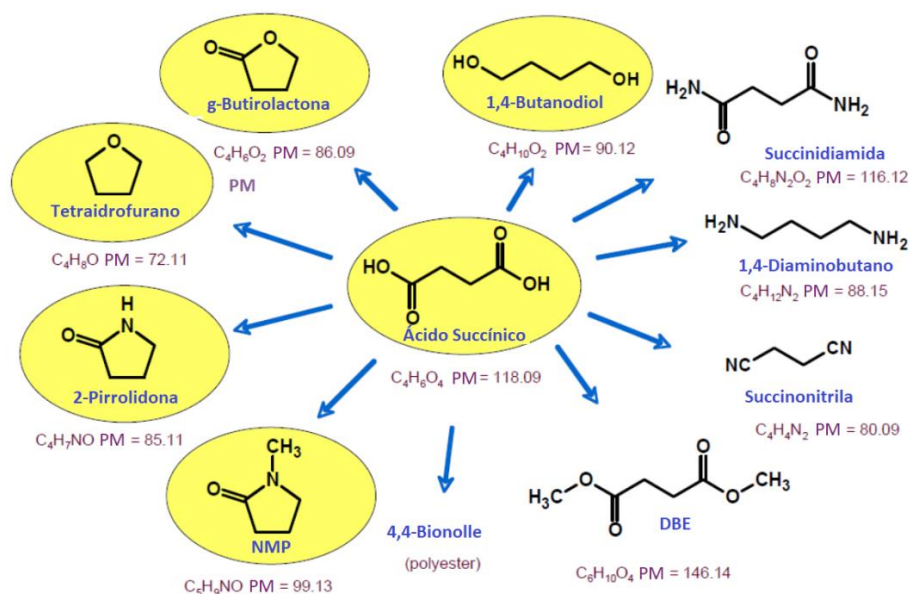


Figura 2.1.1 - Compostos comerciais derivados do AS (adaptado de Werpy e Petersen, 2004).

A metabolização de AS é realizada por uma grande variedade de microrganismos, sendo inclusive um dos subprodutos da fermentação do etanol, juntamente com glicerol e ácido acético (Nghiem *et al.*, 2017). Porém, durante muito tempo o bioprocesso não era economicamente viável, e a produção se dava quase que exclusivamente a partir de anidrido maleico, como explicitado mais adiante. Mas, em 2010, a produção do composto a partir de biomassa já se igualava à petroquímica e rapidamente a ultrapassou (Pinazo *et al.*, 2015), sendo a capacidade instalada atualmente superior a 50 mil toneladas anuais, em um mercado que em 2015 estimou-se ser de 58,5 mil toneladas (MAM, 2016).

A transformação da produção convencional para a fermentação começou ainda na década de 1990, quando o governo norte-americano incentivou o desenvolvimento de processos baseados em matéria-prima renovável para combater a volatilidade do preço do petróleo. O AS então foi um dos primeiros alvos desta iniciativa (Nghiem *et al.*, 2017). Atualmente, o mercado deste ácido de origem renovável é abastecido pela Succinity, uma *joint venture* entre BASF e Corbion Purac; Reverdia, outra *joint venture*, entre DSM e Roquette; BioAmber e Myriant.

Quanto ao PDO, sabe-se que é naturalmente metabolizado durante a fermentação desde o século 19 (Biebl *et al.*, 1999), mas o interesse em sua produção em larga escala é muito mais recente. O composto tornou-se um intermediário valioso pois é utilizado para a produção de polítrimetileno tereftalato (PTT), um polímero empregado na indústria têxtil e automotiva, além de poder competir com o BDO na produção de poliuretanos e de ter mercado nos segmentos de adesivos, revestimentos, cosméticos, solventes e outros.

O PTT tornou-se a principal aplicação do PDO e sua penetração no mercado parece essencial para a expansão de sua bioprodução. Ele possui propriedades que são superiores ao de outros poliésteres como PET e PBT mas, apesar disso, o polímero teve dificuldade na competição devido ao maior custo de produção do PDO e maior complexidade na polimerização e utilização do PTT quando comparado ao popular PET. Essa situação começou a mudar quando métodos químicos mais baratos de obtenção de PDO foram desenvolvidos e, posteriormente, também investiu-se em métodos biotecnológicos (Kurian, 2005).

2.2 Ácido Succínico

2.2.1 Microrganismos para fermentação de Ácido Succínico

O AS é produzido naturalmente no metabolismo de grande parte dos microrganismos, mas a questão crucial para a implementação em escala comercial está na capacidade de isolá-lo e de sintetizá-lo em quantidade economicamente viável. Algo que se tornou uma possibilidade quando se isolou a bactéria *Anaerobiospirillum succiniciproducens*, que é capaz de produzir até 50 g.L⁻¹ da substância e, mais tarde, quando outras espécies ainda mais eficazes e resistentes também foram encontradas (Nghiem *et al.*, 2017).

De acordo com McKinlay *et al.* (2007), o rendimento teórico da via metabólica anaeróbia é de 1,71 mol de AS por mol de glicose, ou 1,12 g.g⁻¹_{glicose}, e ainda com a vantagem de absorver gás carbônico no processo. Mas para tornar o processo viável, foi necessário reduzir a formação de outros subprodutos, otimizar a captação do AS e resolver o problema da redução do pH da solução que ocorre com o aumento da concentração do composto. Em busca disso, microrganismos mais eficientes na produção foram isolados e geneticamente melhorados, mais notavelmente a *Mannheimia succiniciproducens*, a *Basfia succiniciproducens* e mesmo a *E. coli*, que acabou se tornando o biocatalisador da primeira planta de fermentação de AS.

Diferentemente de outras produtoras do AS, a *E. coli* consegue atingir maior densidade celular enquanto mantém alta produtividade, ao mesmo tempo em que necessita de nutrientes e sistemas de recuperação menos complexos e onerosos, podendo utilizar diferentes tipos de açúcares como substrato (apesar de sua preferência por glicose). Outra bactéria normalmente empregada no meio industrial, a *Corynebacterium glutamicum*, também foi geneticamente modificada e apresentou bons resultados na produção de AS a partir de glicose e com baixas quantidades de produtos secundários (Nghiem *et al.*, 2017). A Figura 2.2.1 representa de forma simplificada o metabolismo otimizado para produção de AS.

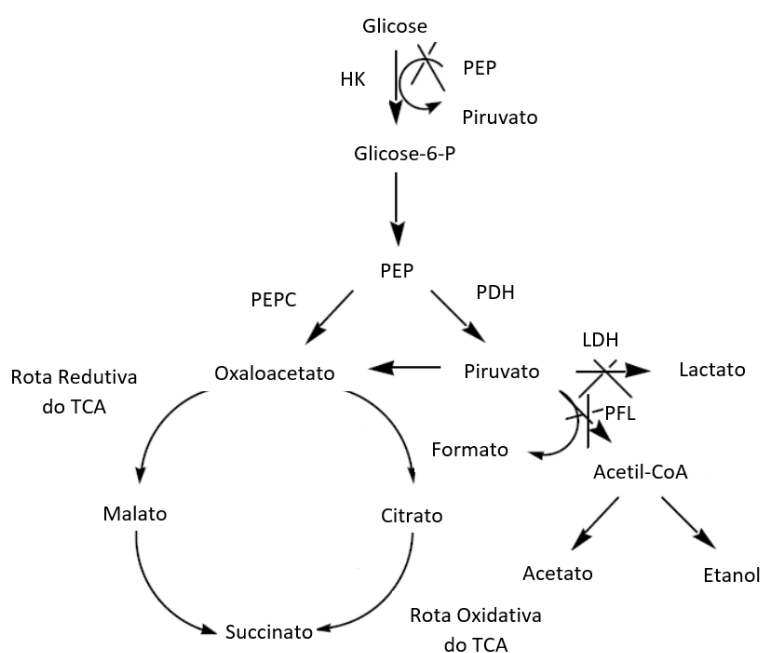


Figura 2.2.1 - Cadeia de reações para a produção enzimática de AS pela *E. coli* selvagem e as reações que podem ser geneticamente eliminadas para otimização (adaptado de BIOAMBER, 2009 e MAU, 2007 apud Vaswani, 2010).

Devido ao já mencionado problema da redução do pH do meio inerente da produção de ácido, tornam-se necessários métodos de neutralização, que logicamente implicam em elevação de custos. Assim, buscando evitar gastos, buscou-se por microrganismos capazes de tolerar maiores níveis de acidez, como *Saccharomyces cerevisiae* e fungos do gênero *Yarrowia*, mas que por sua vez apresentaram dificuldades para a manipulação genética. Atualmente, existe uma gama diversa de microrganismos desenvolvidos capazes de produzir o AS, mas é difícil encontrar uma comparação objetiva quanto às melhores culturas, uma vez que as condições de cultivo são muito variadas (Nghiem *et al.*, 2017). Mesmo assim, serão descritos os processos utilizados nas principais empresas produtoras, avaliados quanto à sua eficácia e potencialidades.

2.2.2 Bioprocessos atuais

Myriant, BioAmber, Reverdia e Succinity são as grandes bioprodutoras no momento. A Myriant utiliza um processo com amônia e o carboidrato de preferência é a glicose. Um esquema da sua planta com capacidade anual de 13,6 mil toneladas em Lake Providence, nos Estados Unidos, está apresentado na Figura 2.2.2.

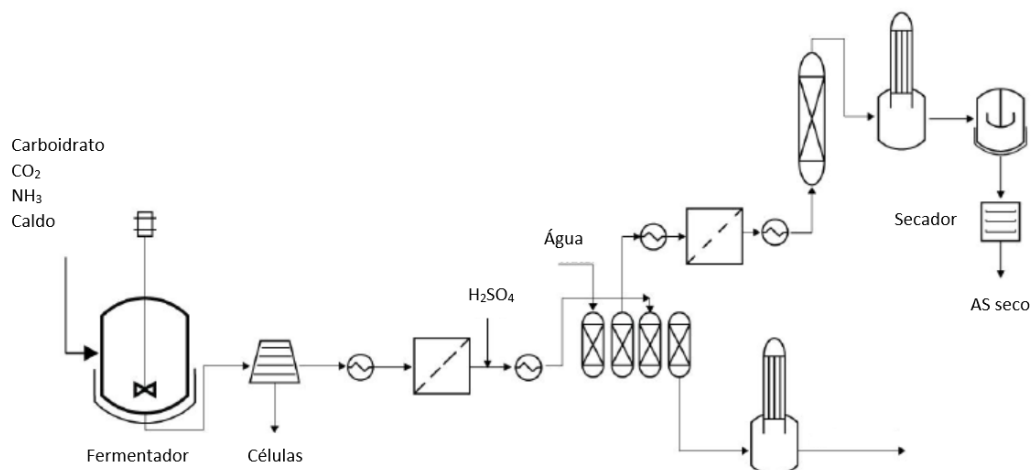


Figura 2.2.2 - Esquema simplificado da unidade de produção de AS da Myriant (adaptado de Shmorhun, 2015a).

A Myriant faz uso da bactéria *E. coli* geneticamente modificada para produzir quase que exclusivamente AS, e sua fonte de carboidrato é o grão de sorgo. O grão deve ser moído e passar por tratamento enzimático (alfa-amilase seguida de glucoamilase) para então tornar a glicose disponível. Uma fonte alternativa é a dextrose de milho (Shmorhun, 2015b).

O crescimento da cultura bacteriana ocorre em uma série de batelada de três estágios, para então servir de inóculo para a batelada em que efetivamente ocorrerá a produção de AS. Gás carbônico e amônia são adicionados ao caldo, e o resultado é a formação de succinato de amônia, que é armazenado em um tanque e posteriormente filtrado em dois estágios (filtração e ultrafiltração) para a remoção das células, sólidos e compostos de alto peso molecular. A solução concentrada é acidificada com ácido sulfúrico para que haja a formação do AS e de sulfato de amônio, que são separados via técnica cromatográfica em um leito móvel simulado (SMB, na sigla em inglês). A purificação do AS é completa com mais uma etapa de nanofiltração e outra de cromatografia de troca iônica em três estágios (troca catiônica, aniônica e absorção de carbono) (Shmorhun, 2015b).

A BioAmber também emprega uma variação geneticamente modificada da *Escherichia coli* para a fermentação, que produz succinato diamônico, em um ambiente anaeróbico abastecido com gás carbônico. Outras espécies podem ser utilizadas, mas requerem nutrientes mais complexos e caros. Nos primeiros projetos da empresa, a amônia é usada como agente neutralizante e fonte de nitrogênio, e a recuperação do succinato diamônico ocorre primeiramente através de evaporação, para depois reagir com um álcool (metanol, etanol, propanol ou butanol) e CO₂ para obter succinato dialquílico. Uma etapa de hidrogenação seria capaz de formar os derivados finais, que podem ser o BDO, THF ou gama-butirolactona (GBL). O uso desta *E. coli* permite que diferentes tipos de substratos sejam empregados: glicose, sacarose e glicerol, entre outros. No caso, o mais utilizado é a glicose proveniente de trigo (Vaswani, 2010).

Para a produção em larga escala alguns detalhes relevantes podem ser mencionados. A etapa de destilação reativa, onde ocorre a reação do sal de AS (o succinato diamônico) com etanol ou outro álcool, requer pressão elevada (entre 6,9 e 13,8 MPa) e temperatura entre 100°C e 200°C, para então seguir para a nova etapa de destilação que tem por objetivo remover água, álcool, acetato e outros líquidos condensáveis. Com o AS na forma esterificada de succinato dietila, a BioAmber pode optar entre uma hidrogenação catalítica para produzir BDO, THF e/ou GBL, conforme já mencionado, ou uma oxi-desidrogenação catalisada para a produção de ácido maleico (Vaswani, 2010). Neste caso, a amônia consegue ser recuperada e reciclada junto de parte do gás carbônico.

O processo de recuperação por acidificação e precipitação, como o empregado pela Myriant, é descrito por diversos autores. Cheng et al. (2012) realizaram uma compilação dos métodos de recuperação do AS e descreveram o processo por precipitação como comercialmente viável, já sendo usado por algum tempo para isolar ácido láctico e cítrico, mas relativamente ineficiente e carente de melhorias por consumir muita energia na reciclagem de reagentes. O que não é mencionado neste estudo, e parece relevante, é a possibilidade de não realizar a reciclagem do sulfato de amônia, reduzindo assim os custos, e revender o composto para a indústria de fertilizantes (o que obviamente também possui suas desvantagens, como a elevação nos custos de matéria-prima e a necessidade de obtenção de acesso ao mercado).

Quanto à utilização da amônia, existem dois problemas. Ao usar um ácido forte para separar o AS, inevitavelmente forma-se um sal de amônia ao final do processo, mas o lado positivo é que o mesmo pode ser comercializado no mercado de fertilizantes, conforme já mencionado. Caso o ácido não seja utilizado, operações de grande consumo energético (como a destilação reativa) acabam se tornando necessários. O outro problema é a interferência negativa que a amônia pode exercer sobre os microrganismos responsáveis pela fermentação, reduzindo a eficiência do processo. Estes contratempos incentivam novas formas de produção, e a BioAmber passou a investir em métodos mais eficientes.

A empresa agora lança mão de um processo diferente, que tem como produto o succinato dissódico, pois utiliza o hidróxido de sódio em vez de amônia durante a fermentação. Uma peculiaridade deste método é que permite a utilização de eletrodialise de membrana bipolar (EDBM, na sigla em inglês), que realiza a separação do succinato dissódico em AS e hidróxido de sódio, que pode ser reciclado de volta para a fermentação. Assim, não há a questão de procurar um destino para subprodutos, mas existem custos elevados no investimento e na substituição das membranas, além de que o sódio também pode ter efeito inibidor sobre a fermentação (Jansen e Gulik, 2014).

Em seu estudo sobre a viabilidade econômica do processo de recuperação com precipitação a base de etanol e ácido sulfúrico, Orjuela et al. (2013) demonstraram que estes dois componentes juntos podem representar mais de 49% no custo da produção do AS. Apesar de não aplicar o

processo sugerido neste artigo, a adição de etanol certamente representa maior custo na recuperação do AS, de forma que pode ser acertada a decisão da empresa em mudar para um processo que utilize a eletrodialise, mesmo que este procedimento também tenha custos particulares. Ainda assim, Jansen e Gulik (2014) comentam que a BioAmber possa estar projetando migrar para a produção direta de AS em caldo de pH ácido, de forma similar ao que já é feito pela Reverdia, mas desta vez utilizando a levedura *Candida krusei*.

Não são divulgadas informações detalhadas do processo produtivo da Succinity, mas sabe-se que é utilizada a bactéria *Basfia succiniciproducens*, que tem esse nome por ter sido isolada pelos pesquisadores da empresa alemã BASF, e que o processo utilizado baseia-se no magnésio, e não na amônia. Neste procedimento, o hidróxido de magnésio realiza a função de controlar o pH e formar o sal de AS (succinato de magnésio) após a fermentação realizada pela cultura geneticamente modificada de *B. succiniciproducens*. Ácido clorídrico é utilizado para a formação do AS e do cloreto de magnésio, que podem ser separados por precipitação, e o MgCl pode ser reciclado via craqueamento térmico, resultando em óxido de magnésio e ácido clorídrico. Esse processo tem a vantagem de não interferir na performance da fermentação, o que pode ocorrer com o uso de amônia, mas possui custos consideráveis no craqueamento do MgCl e é mais suscetível à corrosão (Jansen e Gulik, 2014).

A Reverdia parece empregar o procedimento mais simples, e também mais eficiente, derivado de sua tecnologia proprietária para a fermentação em condições de baixo pH. Isso foi alcançado através da manipulação genética do *Saccharomyces cerevisiae*, conforme demonstrado na Figura 2.2.3.

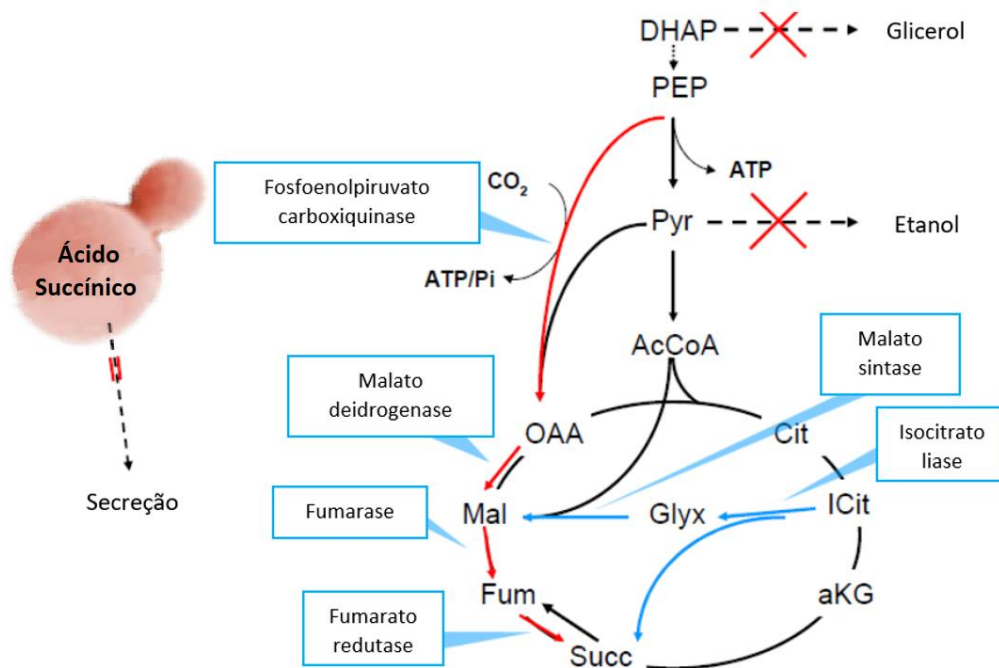


Figura 2.2.3 - Demonstração do ciclo produtivo do AS pela *S. cerevisiae* geneticamente modificada (adaptado de Tweel, 2010).

É possível observar que uma estratégia utilizada no aprimoramento do microrganismo, que permitiu a produção mais eficiente do AS, foi a combinação do caminho oxidativo com o redutivo. Outra vantagem é a resistência à níveis elevados de acidez, fazendo com que a fermentação ocorra mesmo a pH 3, tornando desnecessária a adição de amônia, hidróxido de magnésio ou de sódio, ou outro composto para neutralização. Por consequência, não há formação de sal e o processo de recuperação é muito mais simples. De acordo com a própria companhia, uma vez terminada a fermentação, é realizada a centrifugação para separação das células e sólidos, seguida de

evaporação e cristalização. A recuperação está completa após mais um estágio de dissolução e nova cristalização, não sendo então necessário utilizar filtração, troca iônica, craqueamento ou outro tipo de procedimento que agregaria custo ao processo (Reverdia, 2017). Além disso, devido ao pH reduzido, existe menor risco de contaminação. A Tabela 2.2.1 apresenta de forma simplificada os biprocessos das quatro principais produtoras.

	Microrganismo	Neutralizante	Recuperação (principal processo)
MYRIANT	<i>E. coli</i>	Amônia	H ₂ SO ₄ e Cromatografia
BIOAMBER	<i>E. coli</i>	Amônia / NaOH	Álcool e Destilação Reativa / Eletrodialise
SUCCINITY	<i>B. Succiniciproducens</i>	MgOH	HCl e Precipitação
REVERDIA	<i>S. cerevisiae</i>	Nenhum	Evaporação e Cristalização

Tabela 2.2.1 – Agente de neutralização e principal processo de recuperação empregado pelas quatro principais produtoras de Bio-AS, além dos respectivos microrganismos que realizam a fermentação.

De fato, o método empregado pela Reverdia aparenta ser o mais promissor. Mesmo levando em consideração o fato de que o custo da matéria-prima (que no caso da Reverdia, também é a glicose) é um grande fator na determinação do preço do produto, a diminuição de etapas certamente contribui para dar mais competitividade ao processo. Um dos maiores interesses na produção de compostos com origem renovável é a preservação ambiental, que é observada em outros métodos, mas é ainda mais notável sob a produção direta via fermentação em pH ácido, apresentando vantagem na redução do uso de energia não renovável e na emissão líquida de gases do efeito estufa (Cok e Tak, 2014). A Figura 2.2.4 representa uma simples comparação do processo da Reverdia com os que utilizam bactérias.

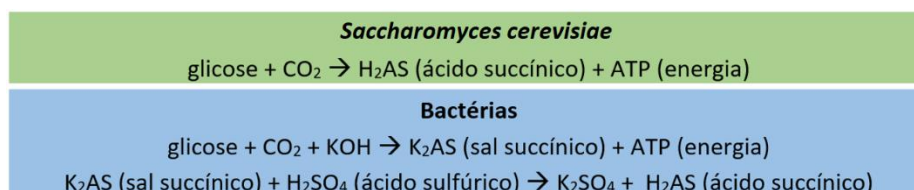


Figura 2.2.4 - Comparação feita pela Reverdia entre o processo de cristalização direta e o baseado na fermentação bacteriana sob neutralização (adaptado de Smidt, 2011).

2.2.3 Comparativo com produção tradicional

Ainda que perdendo espaço, o processo de obtenção do AS a partir do anidrido maleico ainda é muito utilizado na indústria, e está representado na Figura 2.2.5. Inicia-se com uma reação simples de hidrogenação com um catalisador que geralmente é uma liga de níquel, zircônio, alumínio ou silício. A reação é altamente seletiva (entre 98 e 99%) para a formação de anidrido succínico. A segunda etapa consiste na hidratação do anidrido para, enfim, obter-se o ácido desejado (Vaswani, 2010).

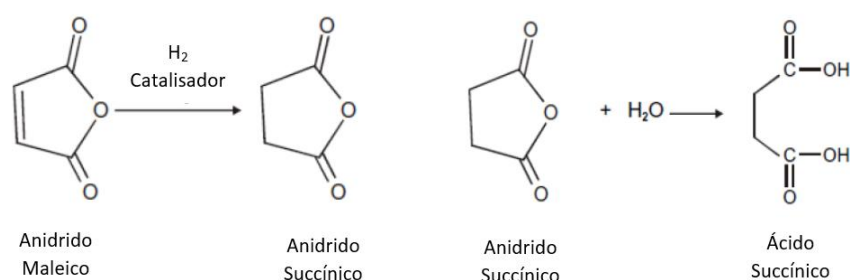


Figura 2.2.5 - Esquema da transformação de anidrido maleico em AS (adaptado de Vaswani, 2010).

O catalisador utilizado na hidrogenação costuma ser níquel ou, algumas vezes, o paládio, e as condições de operação incluem aquecimento entre 120°C e 180°C, além de pressurização que pode chegar a 4 MPa (Pinazo *et al.*, 2015). O anidrido maleico, por sua vez, é obtido da oxidação parcial do n-butano.

Uma comparação aprofundada entre as vias petroquímica e biotecnológica foi realizada por Pinazo *et al.* (2015). Constatou-se que a produção a partir do anidrido maleico é muito superior no que tange ao aproveitamento mássico dos materiais; a massa de resíduo corresponde a menos de um terço da massa de AS produzido, enquanto que mesmo nos métodos mais recentes de produção por biomassa este resíduo é quase sete vezes maior do que a massa do produto; cerca de 76% da massa de insumos usada na conversão de anidrido maleico em AS é transformada, contra apenas 13% nas biorrefinarias. Deve-se ressaltar que estes valores foram obtidos considerando a água do bioprocessamento como sendo reaproveitada e o sulfato de amônio como um co-produto valorizado. Se fosse considerado que a água e o sulfato de amônio são resíduos não aproveitados, este rendimento mássico cairia para apenas 3%.

O método petroquímico ainda tem a vantagem de não precisar utilizar áreas de terras férteis para obter sua matéria-prima, apesar de que não são considerados os impactos da extração do petróleo que dará origem ao n-butanol. Nos outros critérios, porém, observa-se grande vantagem no uso da biomassa.

Ao comparar o consumo de energia, Pinazo *et al.* (2015) observou que o consumo total por tonelada de AS é bastante próximo em ambos os processos, mas a rota bioquímica leva uma pequena vantagem. São 55,1 GJ por tonelada de AS a partir do anidrido maleico, contra 50,2 GJ no bioprocessamento mais econômico e 53,8 GJ no segundo mais dispendioso (se a biorrefinaria optar por utilizar biomassa de segunda geração a partir do sorgo, que inclui material de pior qualidade, há aumento no consumo energético para 87,4 GJ, mas parece ser um caso particular). A eficiência energética mostra diferenças mais claras: 23% na via petroquímica, contra valores entre 28% e 32% na produção com biomassa. Estes valores estão simplificados na Tabela 2.2.2. Além disso, como já mencionado, a opção pela fermentação ainda substitui o consumo de combustíveis fósseis.

	BIORREFINARIA	ANIDRIDO MALEICO
Aproveitamento Mássico	3% a 13%	76%
Energia GJ/tonelada	50,2 a 53,8	55,1
Eficiência Energética	28% e 32%	23%

Tabela 2.2.2 – Comparação entre bioprodução de AS e a produção tradicional com base em anidrido maleico, com base nos dados apresentados por Pinazo *et al.* (2015). Exclui-se os dados referentes ao uso de grão de sorgo de segunda geração para a bioprodução.

2.2.4 Perspectivas tecnológicas

As pesquisas para melhoria no processo seguem basicamente quatro direções: a manipulação genética para obter microrganismos melhor adaptados à produção do AS; métodos alternativos de controle da fermentação; escolha e aproveitamento de substrato e processo de recuperação do AS.

Naturalmente, não são revelados certos detalhes nas condições de produção nas grandes biorrefinarias de AS. Estima-se que a produtividade mínima deva ser de $2,5 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (Yan *et al.*, 2014), enquanto que a fermentação ocorre em batelada ou batelada alimentada. Mesmo sem ter parâmetros precisos para comparação de produtividade, podemos citar algumas pesquisas que buscam oferecer opções para melhorar ainda mais o bioprocessos.

Yan *et al.* (2014) demonstraram que a utilização de um leito de fibras para imobilização das células eleva a densidade celular e sua longevidade, levando a uma concentração celular que pode ser dez vezes superior que a fermentação com microrganismos livres. Seus estudos utilizaram a *Actinobacillus succinogenes* e obtiveram como resultado produtividade máxima, conversão e concentração ($2,77 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, $0,89 \text{ g.g}^{-1}$ e $98,7 \text{ g.L}^{-1}$, respectivamente) melhores do que sem imobilização. Mas este é apenas mais um dentre outros estudos demonstrando a capacidade de se utilizar o biorreator de leito fibroso e outros meios de imobilização para melhorar o processo. Outra proposta levantada por Cao *et al.* (2013) é investigar a produção em reator contínuo; apesar de mais complexo, o reator contínuo tem potencial para maior produtividade, mas são necessários mais estudos.

Atualmente usa-se majoritariamente a glicose, pois é o carboidrato que é melhor aproveitado pelos microrganismos na fermentação. Porém, a necessidade de extraí-la da biomassa para poder formar o caldo acarreta em custos relevantes às biorrefinarias. A perspectiva de conseguir adaptar a produção para outras fontes de carbono é bastante grande, especialmente no caso do glicerol. Estudos já demonstraram a viabilidade da produção do AS a partir de xilose e glicerol, e a possibilidade de biorrefinarias serem capazes de produzir comercialmente e competitivamente o AS utilizando um composto abundante e de baixo custo como o glicerol pode impulsionar consideravelmente este mercado.

Vlysidis *et al.* (2011) realizaram experimentos para a produção a partir de glicerol e, apesar do bom rendimento, a produtividade ficou muito aquém do desejado (apenas $0,27 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Também usando glicerol como substrato, Li *et al.* (2017) testaram a via aeróbica com o fungo *Yarrowia lipolytica* e conseguiram melhores resultados ($1,46 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$), mas ainda inferiores aos apresentados pelas bactérias atualmente empregadas na via anaeróbica com glicose.

Considerando os desafios presentes, a tecnologia desenvolvida pela Reverdia parece apontar para uma direção promissora. Por terem obtido sucesso na criação de uma cultura capaz de manter a fermentação em ambientes de pH reduzido, eliminou-se a necessidade de agentes neutralizantes ou de desenvolver uma estratégia de remoção *in situ*, o que por sua vez permitiu que as etapas mais dispendiosas de separação fossem desnecessárias. Parece plausível, então, afirmar que os futuros desenvolvimentos na produção de AS via biotecnológica estarão ligados à manipulação genética visando a fermentação em pH ácido e na adaptação a fontes de carbono como o glicerol.

2.2.5 Perspectivas de mercado para o Brasil

Enquanto que, inicialmente, o preço estimado do AS de biomassa não era considerado competitivo, podendo superar os nove dólares por quilo, a situação atual é totalmente diferente. A melhora tecnológica permitiu que os custos fossem reduzidos e estes são, atualmente, inferiores

aos do processo petroquímico. Este último varia principalmente com base no valor do petróleo, que mesmo estando em relativa baixa ainda mantém o preço do anidrido maleico elevado demais para competir com a biomassa. Considerando valores de 2013, o custo para produzir AS via biotecnologia é, no pior cenário, 48% do custo via petroquímica, e apenas 25% na melhor projeção (Pinazo *et al.*, 2015). Esta diferença de preços certamente foi muito reduzida, uma vez que o barril de petróleo hoje está praticamente a metade de seu preço de 2013, mas mesmo que este fato se traduzisse em uma queda de também 50% no custo do anidrido maleico, ainda haveria desvantagem com relação ao bio-AS.

Com o mercado em expansão, as empresas estão investindo para ampliar a capacidade produtiva de AS com fontes renováveis. A BioAmber, que tem sua origem na primeira unidade de produção do ácido via bioprocessos, está planejando construir mais duas plantas com essa finalidade na América do Norte e no sudeste da Ásia. Também existe a expectativa que a Myriant consiga firmar uma parceria com a China National BlueStar para construir uma unidade com capacidade para 100 mil toneladas, enquanto a BASF/Purac estuda construir sua segunda planta (Nghiem *et al.*, 2017).

O mercado brasileiro tem acesso a grandes quantidades de glicerol e biomassa de baixo custo, como o bagaço de cana, de forma que a obtenção de substrato para a fermentação seria relativamente fácil. Como segundo maior produtor mundial de biodiesel, a oferta de glicerol torna-se abundante, mas sua aplicação na produção de AS esbarra na menor produtividade quando comparado com a glicose. O desenvolvimento de microrganismos e processos que pudessem dar melhor rendimento a produtividade com este substrato certamente colocaria o Brasil no mapa para investimentos em biorrefinarias de AS.

Apesar desta situação favorável na obtenção de matéria-prima, as condições atuais para produção do AS no Brasil não são animadoras. O maior entrave é justamente o mercado doméstico, que não teria vazão para justificar a produção. De acordo com a Associação Brasileira da Indústria Química (ABIQUM), não existe nenhum produtor de AS no país e a Receita Federal não tem registros de importação deste composto, o que indica que não há demanda por ele.

A possibilidade de usar o AS para substituir o anidrido maleico também não parece promissora no cenário nacional. Apenas a Elekeiroz produz este anidrido no país, em uma unidade com capacidade para 30 mil toneladas ao ano (ABIQUM, 2017), e as importações da substância nos últimos anos variaram entre 9 mil e 13 mil toneladas. Além disso, o preço do anidrido maleico a partir do n-butanol ainda é baixo o bastante para dificultar a conversão a partir do bio-AS a custos competitivos, de forma que uma biorrefinaria de AS visando este mercado teria de competir apenas com as importações. Uma opção poderia ser a produção para exportação, mas as grandes empresas produtoras já estão buscando expandir suas unidades nos principais mercados, como a Ásia, conforme apresentado na Figura 2.2.6.



Figura 2.2.6 - Projeção dos principais mercados para AS de 2016 a 2021 (adaptado de MAM, 2016).

2.3 1,4-Butanodiol

2.3.1 Desenvolvimento de bioprocessos

O desenvolvimento de um bioprocesso para o BDO é muito recente. A maior parte da produção mundial é feita a partir do acetileno (Vaswani, 2012) e a alternativa para se obter um BDO baseado em fontes renováveis, além do método da empresa Genomatica, é simplesmente a produção de compostos intermediários como o AS via biotecnologia e sua posterior conversão. Para chegar a um processo biotecnológico direto e economicamente viável, diversas abordagens foram tentadas ao longo dos anos.

Tachibana e colaboradores (2010) demonstraram a possibilidade de obtenção do BDO a partir de furfural, que por sua vez havia sido obtido de resíduo de celulose. A estratégia consiste na oxidação do furfural em ácido fumárico seguida de uma reação de hidrogenação com um catalisador que direcionaria para AS ou BDO. A proposta, além de não ser um processo biotecnológico, apresenta diversos contratempos como a necessidade de elevadas pressões (13 MPa), a utilização de catalisadores a base de paládio e ródio e baixas taxas de conversão (apenas 29,6%).

Com as dificuldades em conseguir um bioprocesso direto, uma das alternativas exploradas para a geração de BDO por fontes renováveis é a hidrogenação de AS. A BioAmber já utiliza um processo catalisado para obter a substância com base em seu bio-AS; a conversão pode ser feita em um único estágio através de catalisadores baseados em metais nobres, especialmente o rênio e o rutênio (Kang *et al.*, 2016).

O primeiro relato de uma rota direta de produção do BDO via fermentação veio de um grupo de cientistas da empresa Genomatica. Por não ser um composto naturalmente produzido por nenhum microrganismo conhecido, os pesquisadores tiveram de fazer alterações genéticas na *E. coli* não apenas para alcançar o composto, como também para reduzir a concentração de produtos secundários. Como o BDO pode ser obtido a partir do AS, que por sua vez faz parte do ciclo metabólico, a proposta dos autores foi manipular a bactéria para que fossem produzidas enzimas capazes de catalisar a hidrogenação do succinato e do ácido alfa-cetoglútarico, que é outra substância naturalmente metabolizada (Yim *et al.*, 2011). As reações estão demonstradas na Figura 2.3.1:

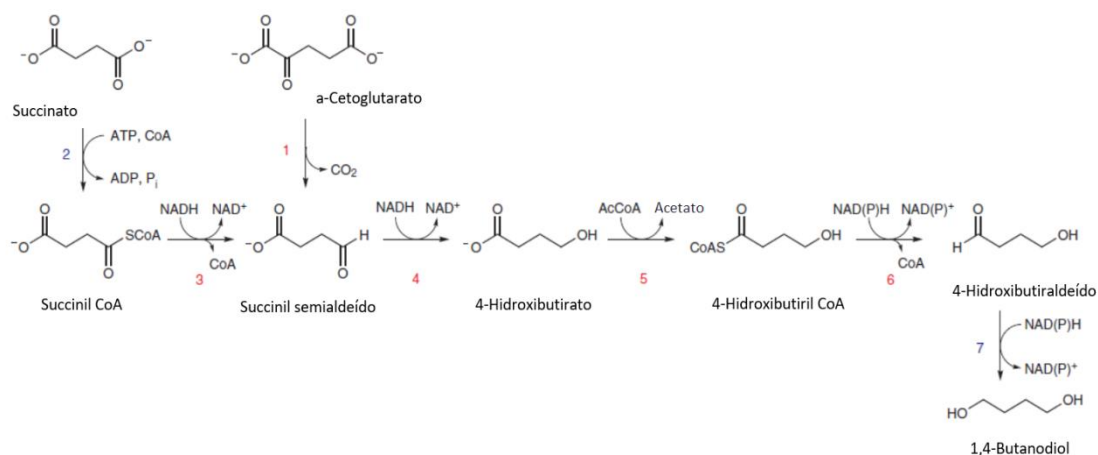


Figura 2.3.1 - Sequência de reações enzimáticas para obtenção do BDO a partir do succinato e do alfa-cetoglutarato. As enzimas responsáveis por cada etapa estão numeradas: 1) 2-oxoglutarato descarboxilase; 2) succinil-CoA sintetase; 3) succinato CoA-dependente semialdeído desidrogenase; 4) 4-hidroxitirato desidrogenase; 5) 4-hidroxitiril-CoA transferase; 6) 4-hidroxitiril-CoA redutase; 7) álcool desidrogenase. As etapas 2 e 7 são as únicas que ocorrem naturalmente em *E. coli* (adaptado de Yim *et al.*, 2011).

Após testes que asseguraram a capacidade da *E. coli* geneticamente alterada de produzir estas enzimas, que por sua vez se mostraram capazes de produzir o BDO em quantidade minimamente satisfatória, tratou-se de canalizar o consumo de carboidrato para esta rota, eliminando-se as reações concorrentes que não fossem prejudicar o crescimento celular. As modificações também permitiram que substratos que não são naturalmente aproveitados pela *E. coli*, como a sacarose, fossem utilizados para a produção. A glicose apresentou o melhor rendimento, mas mesmo misturas de diferentes carboidratos derivados de biomassa hidrolisada não tiveram queda significativa na eficiência. A primeira bioprodução do BDO alcançou 18 g.L⁻¹, obtida em condições microaeróbicas, sendo este um valor considerável para uma primeira inovação, mas ainda insuficiente para ser comercialmente viável (Yim *et al.*, 2011).

Ao longo dos anos, a Genomatica seguiu aprimorando seu procedimento, obtendo resultados que permitiram a associação para produção juntamente da BASF, em 2013, e para a elaboração de uma biorrefinaria exclusiva com a italiana Novamont. Os números mais recentes divulgados relatam um rendimento superior a 0,40 g_{BDO}.g⁻¹_{glicose} (80% do teórico), produtividade acima de 3,5 g.L⁻¹.h⁻¹ e concentrações superiores a 125 g.L⁻¹. Subprodutos foram drasticamente reduzidos, com etanol em concentração inferior 1 g.L⁻¹. Um dos problemas a serem confrontados é a distribuição desigual de oxigênio e gás carbônico em um biorreator de grande escala, especialmente quando deseja-se manter condições microaeróbicas, mas a *E. coli* geneticamente modificada mostrou-se resistente a estes efeitos (Burgard *et al.*, 2016).

O processo de recuperação é simples e é descrito pela própria Novamont. Uma vez concluída a fermentação, um processo de pasteurização inativa as células, que são removidas do caldo através de filtração (e reaproveitadas como fonte para biogás), enquanto que outras moléculas maiores e alguns sais são coletados em nano e ultrafiltração. Os sais remanescentes são removidos por cromatografia de troca iônica, e após uma última etapa de destilação o BDO está adequado para comercialização (BBWN, 2016).

2.3.2 Alternativas tecnológicas

Uma abordagem diferente foi levantada por Liu e Lu (2015), alguns anos após a Genomatica anunciar a viabilidade de seu processo com a *E. coli*. Utilizando uma variação modificada desta mesma espécie, os autores sugeriram tratar de forma separada o desenvolvimento celular e a metabolização dos produtos, fornecendo substratos diferentes para cada sistema. Nesta proposta, a produção do BDO seria realizada pelo chamado “reator enzimático”, que seria regulado por “controladores genéticos”; ou seja, a manipulação genética da *E. coli* geraria um sistema metabólico que regularia a ação enzimática responsável pela síntese do BDO, conforme demonstrado na Figura 2.3.2.

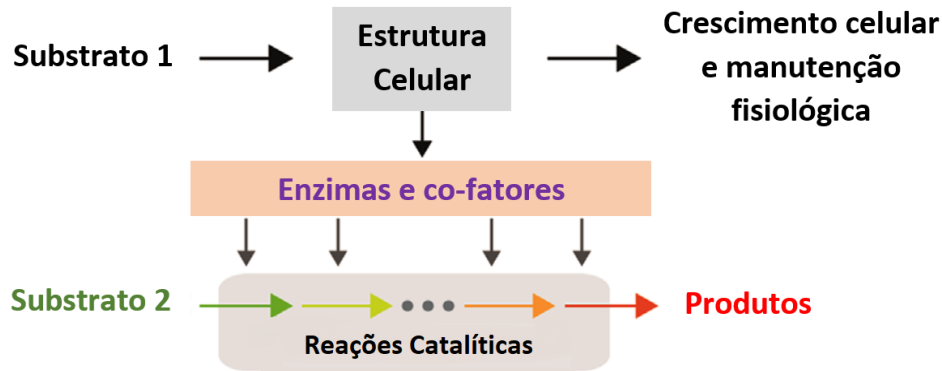


Figura 2.3.2 - Esquema representativo da partição de sistema em rotas paralelas de utilização de substratos (adaptado de Liu e Lu, 2015).

Para a produção enzimática do composto o substrato fornecido foi a d-xilose, enquanto que para a manutenção celular foram disponibilizadas fontes de carbono variadas. Para isso, os autores removeram os genes responsáveis pela quebra da d-xilose que estavam ligados ao crescimento celular, mantendo a atividade normal para a utilização de glicose. A extração do BDO foi realizada com uma sequência de centrifugação, evaporação e extração líquida com acetato etílico. A técnica foi considerada bem-sucedida na produção do BDO, com rendimento superior ao apresentado quando a autorregulação era substituída por indutores externos, mas ainda se mostrou muito deficiente para a produção em maior escala – sua taxa de conversão era apenas $0,07 \text{ mol}_{\text{BDO}} \cdot \text{mol}^{-1}_{\text{d-xilose}}$ e foram necessárias 24 horas para que BDO começasse a ser produzido.

Um outro processo foi descrito por Tai e colaboradores (2016) para a obtenção do BDO a partir do hidrolizado de biomassa lignocelulósica, como xilose e arabinose. Inicialmente, um tratamento com enzimas transforma este material em 2,5-dioxopentanoato, que com mais duas etapas de reação enzimática se transforma no BDO, em um processo que desde a pentose original até o produto final necessita de apenas seis etapas. Um esquema com os diferentes trajetos analisados pelos autores para obter compostos de alto valor com biomassa é apresentado na Figura 2.3.3.

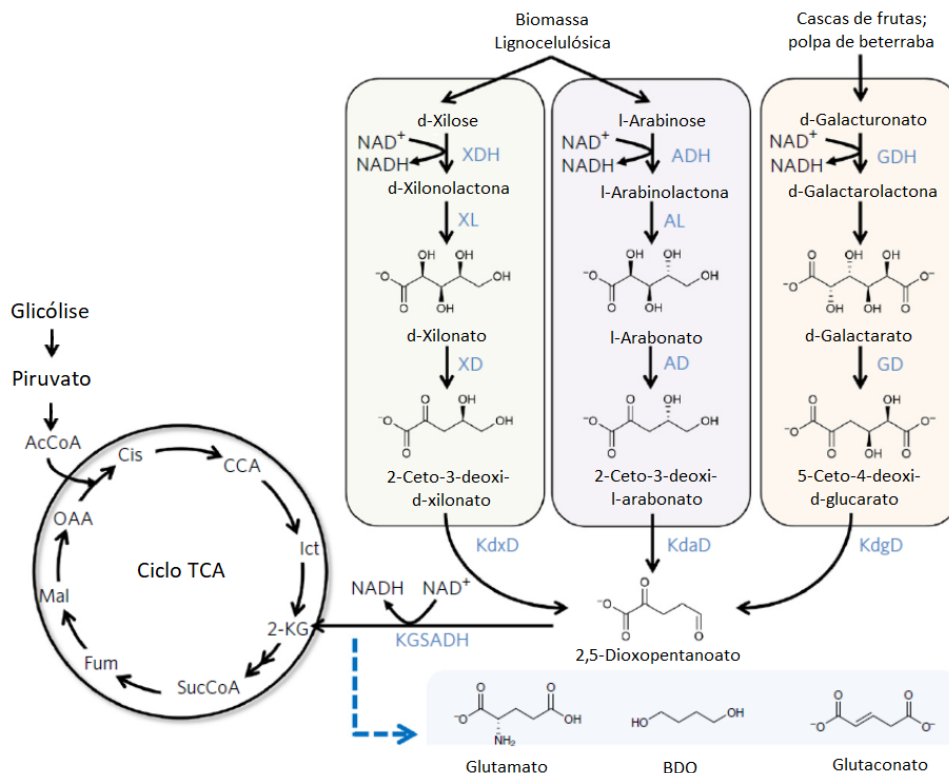


Figura 2.3.3 - Esquema com as múltiplas reações para obtenção de glutamato, BDO e glutaconato a partir de diferentes fontes de carboidrato (adaptado de Tai *et al.*, 2016).

O estudo destes autores se concentrava no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) da *E. coli*, representado no diagrama, mas é possível observar que o método de obtenção do BDO é realizado à revelia do mesmo. Nenhuma análise dos custos para a produção do BDO via este processo foi realizada e, apesar de os experimentos para produção em maior escala terem apresentados resultados insuficientes para a produção comercial (um máximo de 3,88 g.L⁻¹ de BDO e rendimento de 0,37g_{BDO}.g⁻¹_{xilose}, correspondente a 62% do teórico, foi obtido), o sucesso na formação do BDO em apenas seis etapas pode ser um avanço para o desenvolvimento da tecnologia para novas biorrefinarias do composto.

Para o futuro desenvolvimento desta estratégia também seria necessário reduzir ainda mais a concentração de produtos secundários e melhorar o rendimento. Ainda assim, as tentativas de produção de BDO a partir de lignocelulose são importantes para abrir caminho para a utilização desta abundante matéria-prima, não só para o BDO como em outros compostos intermediários, como o próprio AS analisado neste trabalho. Mas parece coerente afirmar que seriam necessários mais estudos sobre os custos do processo, especialmente em comparação com o processo da Genomatica, que faz uso da glicose.

2.3.3 Tecnologia futura

A biotecnologia na produção do BDO ainda é incipiente, existindo espaço para que novas propostas apareçam e possam ser comercialmente aproveitadas no médio prazo. Como até agora a Genomatica foi a única a desenvolver um bioprocessos viável, encontram-se grandes incentivos para que pesquisadores e empresas encontrem alternativas para entrar neste promissor mercado. Sob esta perspectiva, o recente estudo publicado por Wang *et al.* (2017) chama atenção.

Uma nova rota para produção também com *E. coli* foi estabelecida pelos autores (representada na Figura 2.3.4), tomando como base a xilose e com taxa de conversão teórica máxima de $0,6 \text{ g}_{\text{BDO}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{xilose}}$. Para alcançá-la, Wang e colaboradores (2017) repetiram a abordagem de pesquisas anteriores, como as de Liu e Lu (2015) e Tai *et al.* (2016), e manipularam geneticamente a bactéria para a produção de enzimas até então exógenas, e que realizam as etapas de transformação de xilose em BDO de forma paralela ao ciclo normal do metabolismo celular.

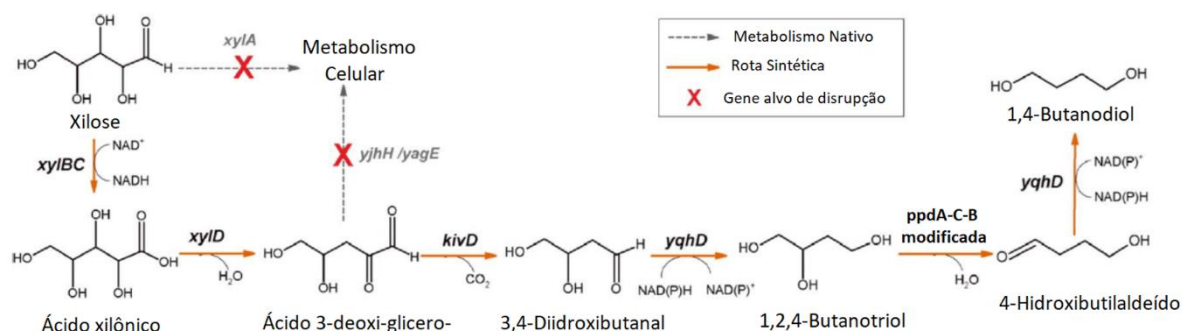


Figura 2.3.4 - Representação da seqüência de reações enzimáticas para a obtenção do BDO a partir da xilose. As setas cinzas representam o caminho natural que foi interrompido pela remoção dos genes ligados às enzimas responsáveis pela reação indesejada. As setas laranjas correspondem às etapas artificialmente adicionadas pelos cientistas. As siglas representam os genes que foram alterados ou incluídos para que produzissem as enzimas desejadas (Wang *et al.*, 2017).

O processo inicia com a oxidação da xilose para ácido xilônico, e precisa de mais cinco reações catalisadas por enzimas para alcançar o produto desejado. As cinco primeiras etapas não são naturais do metabolismo celular, sendo realizadas graças à manipulação e inclusão de genes capazes de produzir enzimas responsáveis por estas transformações.

Wang *et al.* (2017) apontam a principal deficiência do processo: a enzima diol desidratase responsável pela penúltima etapa teve de ser extraída da *Klebsiella oxytoca*, e não é muito adaptada para a desidratação do 1,2,4-butanotriol (1,2,4-BTO), sendo 32 vezes mais lenta do que para a desidratação do 1,2-propanodiol, sua função original. A eliminação deste gargalo é essencial para haver uma possibilidade de produção economicamente viável de BDO. O grupo então promoveu alterações proteicas para ajustar os centros ativos da enzima e outras manipulações para deixar a enzima melhor adaptada a interagir com o 1,2,4-BTO. O resultado foi a produção de BDO com concentração até $0,209 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, um valor ainda muito baixo.

Apesar de todos os esforços, a etapa de desidratação do 1,2,4-BTO continua muito limitante, uma vez que a produção do 1,2,4-BTO alcançada foi de $1,506 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, ou seja, cerca de 7,2 maior que a concentração obtida de BDO. Mesmo assim, a demonstração de mais um bioprocessos para obtenção do bio-BDO abre porta para novos desenvolvimentos, e a rota apresentada com apenas seis reações entre a xilose e o produto final é um avanço significativo quando comparado ao processo da Genomatica que precisa antes passar pelo TCA. Se for solucionado o problema da desidratação na quinta etapa, ou alternativas forem apresentadas, futuros aprimoramentos poderiam levar este processo a ser viável em larga escala.

Um dos problemas inerentes destas propostas de produção de BDO em *bypass* (ou seja, de forma separada do ciclo metabólico), e poucas vezes destacado, é a maior concentração de subprodutos, o que logicamente dificultará a recuperação do composto. Neste ponto, a rota metabólica originalmente proposta por Yim *et al.* (2011) leva a vantagem de direcionar o metabolismo celular para o produto desejado. Porém, ambos os processos poderiam ocorrer simultaneamente e melhorar ainda mais a produtividade.

Como qualquer desenvolvimento nesta área requer alterações genéticas, Andreato e colaboradores (2016) realizaram um estudo sobre as possibilidades de manipulação em bactérias do gênero *E. coli* para produção do BDO. Utilizando análise computacional, foram selecionadas as 20 enzimas de maior potencial para afetar positivamente a eficiência de bioprocessos e/ou reduzir a formação de produtos secundários indesejados. Também foi determinado que as enzimas que lidam com as etapas finais do TCA são as mais promissoras, além daquelas capazes de alterar o fluxo de carbono proveniente de carboidratos para aumentar a produtividade de BDO. Apesar de que a análise detalhada da manipulação genética não é o foco do presente estudo, não se pode deixar de ressaltar a relevância da publicação do grupo de Andreato, uma vez que até o momento boa parte das rotas metabólicas propostas sofrem com as limitações em produtividade e taxa de conversão, de forma que a colaboração dos autores pode acelerar o desenvolvimento de um bioprocessos alternativo ao da Genomatica.

2.3.4 Comparativo com o método tradicional

A produção atual é baseada na utilização de combustíveis fósseis, sendo o método Reppe o mais tradicional. O método consiste primeiro na reação de acetileno com formaldeído sob aquecimento (100 a 110°C) na presença de um catalisador para a formação de 2-butino-1,4-diol, que precisa ser hidrogenado para então formar o BDO. Este é o método mais utilizado, especialmente nos Estados Unidos. No Japão é mais empregado o processo desenvolvido pela Mitsubishi: butadieno e ácido acético são convertidos em 1,4-diacetoxi-2-buteno na presença de um catalisador e sob aquecimento, seguido de um processo de hidrogenação para obter 1,4-diacetoxibutano. Este composto interage com uma resina de troca iônica, e a depender do tempo de residência e temperatura pode formar diferentes misturas de BDO e THF (LookChem, 2017). Outros dois processos são a hidrogenação de anidrido maleico e o processo da empresa Lyondell, que consiste em uma etapa de isomerização de óxido de propileno para álcool alílico e depois uma etapa de hidroformilação (Aghaziarati *et al.*, 2007).

O método Reppe possui vantagens como o baixo custo do acetileno e utilização de catalisadores baseados em metais de menor valor, como o cobre. Originalmente empregado em reator de leito fixo, a periculosidade do acetileno quando submetido a altas pressões tem incentivado a migração para o leito fluido, que trabalha a pressões inferiores. Apesar de ainda ser muito utilizado, não é o mais seguro tanto para os trabalhadores quanto para o meio-ambiente (Haas *et al.*, 2005).

A escolha por hidrogenação do anidrido maleico tem a vantagem de ser baseada em compostos de baixo valor, como o próprio anidrido e o butano do qual tem origem. Porém, não existe o ganho por economia de combustíveis fósseis que as rotas metabólicas oferecem.

Por ser um processo extremamente recente, ainda não foram realizados estudos comparativos entre a biorrefinaria da Novamont e os métodos tradicionais. Apesar de não terem sido encontrados dados a respeito do preço do bio-BDO, não há motivos para crer que seja muito superior ao de origem petroquímica, tendo em vista o recente investimento feito na Itália ao dedicar uma planta exclusivamente para produzi-lo. Pode-se ressaltar que o AS produzido via biotecnologia consegue custos ainda inferiores aos de origem petroquímica, e assim é possível crer que o bio-BDO é capaz do mesmo.

De acordo com a Novamont, o bioprocessos é capaz de reduzir em mais de 50% a pegada de carbono. Forte *et al.* (2016) realizaram um estudo comparativo do impacto ambiental entre a produção tradicional via método Reppe e uma biorrefinaria hipotética na Itália utilizando biomassa de trigo. A análise levou em conta todo o ciclo de vida do produto, desde a produção do trigo até o

portão da refinaria, e os resultados demonstraram que mesmo nas estimativas de pior cenário o bio-BDO demonstrou menor impacto em todos os critérios. As características que mais pesaram negativamente para a rota petroquímica foram a utilização de combustíveis fósseis e o uso de acetileno e formaldeído como matéria-prima, uma vez que ambas as substâncias são produzidas por processos industriais bastante poluentes e de grande consumo energético. A Figura 2.3.5 demonstra as emissões desta biorrefinaria hipotética em comparação com o método Reppe sob diferentes critérios.

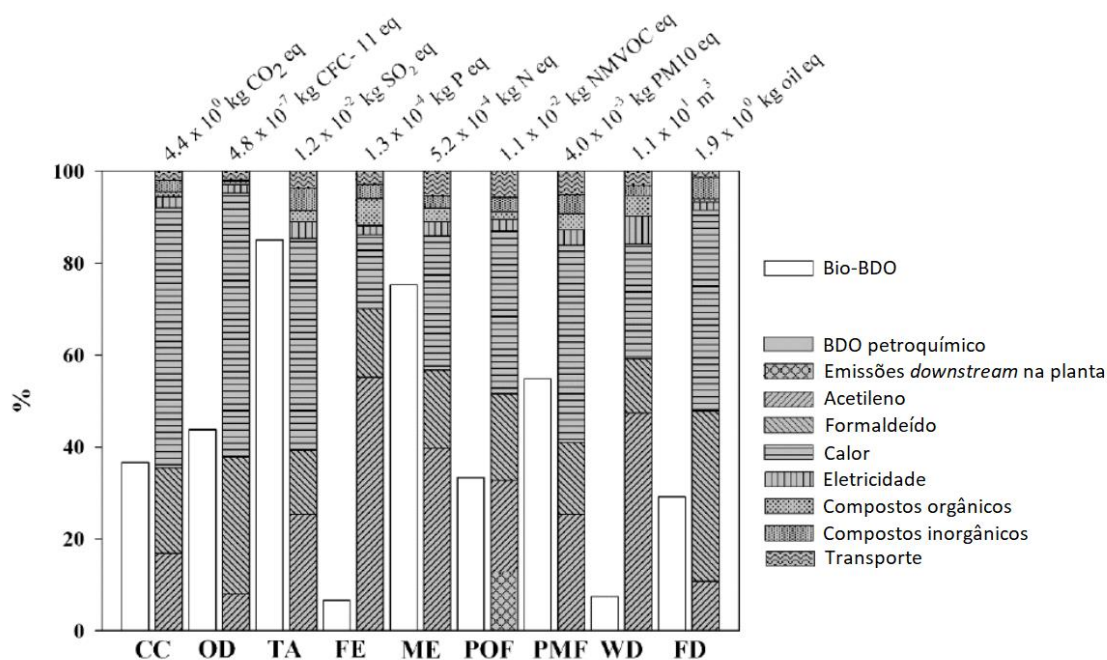


Figura 2.3.5 - Comparação do impacto ambiental para a produção de 1kg de BDO via fermentação e via método Reppe. Os critérios de comparação são: Mudança Climática (CC), Degradação de Ozônio (OD), Acidificação do Solo (TA), Eutrofização de Água Doce (FE), Eutrofização Marinha (ME), Formação de Oxidantes Fotoquímicos (POF), Formação de Material Particulado (PMF), Consumo de Água (WD) e Consumo Fóssil (FD) (adaptado de Forte *et al.*, 2016).

2.3.5 Mercado no Brasil

Nos registros da ABIQUIM não consta uma única empresa produtora de BDO no país. E mesmo os valores de importação não são significativos: a Receita Federal tem registro de apenas 600 toneladas do composto entrando no país durante todo o ano de 2016. Qualquer produção de BDO brasileiro, então, teria de ser voltada para o mercado externo, que por sua vez teria de abastecer mercados longínquos, pois não há demanda pelo composto na América do Sul – Argentina e Uruguai, por exemplo, não registraram nenhuma entrada de BDO importado em 2016 (Penta-Transaction, 2017). A Figura 2.3.6 demonstra as regiões do planeta onde o foco de interesse na produção do composto se distribui.

Capacidade Global de Butanodiol por região

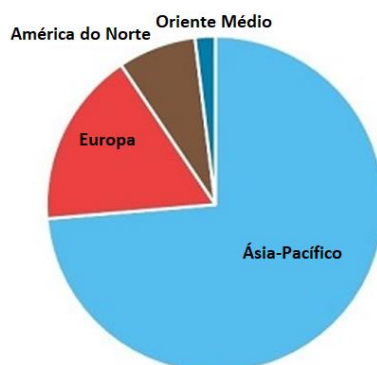


Figura 2.3.6 - Distribuição global da capacidade produtiva do BDO. A América Latina não possui produção relevante do composto (MCGROUP, 2017).

Uma alternativa seria a consolidação de uma estrutura industrial completa para aproveitar o BDO produzido, uma vez que o próprio é um composto intermediário e nos parece mais eficiente reduzir as distâncias entre intermediário e aproveitamento final. Uma das principais aplicações do BDO é a produção do PBT, um polímero importante para a indústria (especialmente a automotiva), e em 2016 o Brasil importou quase oito mil toneladas deste material. O volume não justificaria o investimento se fosse voltado apenas para o mercado interno, mas a grande parte deste material vem da Europa e da China e é razoável supor que uma produção local poderia obter vantagens competitivas para abastecer o mercado regional.

Em 2013 a Braskem iniciou uma parceria com a Genomatica para a produção de bio-butadieno, e com licenciamento exclusivo para produção nas Américas (FOC, 2014). Em 2015, a Braskem noticiou que teve sucesso em produzir o composto via fermentação em escala laboratorial (Braskem, 2015), porém não há nenhum planejamento divulgado para a criação de uma biorrefinaria voltada para o BDO, tampouco existem razões para crer que a Braskem faria a produção no Brasil e não em uma unidade no exterior.

2.4 1,3-Propanodiol

2.4.1 Desenvolvimento e aprimoramento de bioprocessos

Enquanto que outros intermediários importantes são normalmente fermentados a partir da glicose, o bio-PDO é obtido a partir do glicerol, o que pode atualmente ser considerado uma vantagem. Em 2000, a DuPont inaugurou sua unidade de biomateriais cujo primeiro produto desenvolvido foi PTT de bio-PDO, e em 2007 uma *joint venture* entre DuPont e Tate & Lyle iniciou a produção do composto através de *E. coli* geneticamente modificada para transformar glicose em glicerol, e do glicerol para o PDO (Silva *et al.*, 2014). Com a produção de biodiesel em volumes muito maiores do que na década passada, o glicerol tornou-se mais acessível e o bio-PDO ganhou muito potencial.

Alguns detalhes desta tecnologia proprietária da DuPont não estão disponíveis, mas, de acordo com Nakamura e Whited (2003), a concentração de PDO obtida pela fermentação aeróbica é de 135 g.L⁻¹ e produtividade de 3,5 g.L⁻¹.h⁻¹, com aproveitamento de 51% da massa de glicose. O método utilizado para recuperação do PDO não foi divulgado pela companhia (Hermann e Patel, 2007), tornando inviável que comparações com outros processos sejam realizadas de forma confiável. Sabe-se, porém, que a planta da DuPont utiliza a glicose derivada do milho, e que a *E. coli* é a responsável tanto pela transformação da glicose em glicerol quanto do glicerol em PDO (Kurian, 2005). Apesar de esta unidade existir por cerca de dez anos, comprovando a viabilidade da bioprodução do PDO, não há registro de outras empresas do setor que tenham construído plantas similares, apenas projetos e plantas-piloto.

Para ocorrer o processo de fermentação do glicerol em PDO, é preciso que o metabolismo percorra tanto a rota oxidativa quanto redutiva. Em situação anaeróbica, o glicerol é oxidado e desidrogenado para entrar no ciclo de crescimento celular, gerando subprodutos como ácido láctico e 2,3-BDO, e excesso de NADH. Este NADH precisa ser reconvertido a NAD⁺ e, para isso, o glicerol passa por um processo redutivo em dois estágios. No primeiro, a enzima glicerol desidratase o converte em 3-hidroxiopropionaldeído (3-HPA), para no segundo ocorrer a redução (com conversão de NADH em NAD⁺) em PDO (Nakamura e Whited, 2003). Na Figura 2.4.1 está representada a cadeia de reações metabólicas derivadas do glicerol.

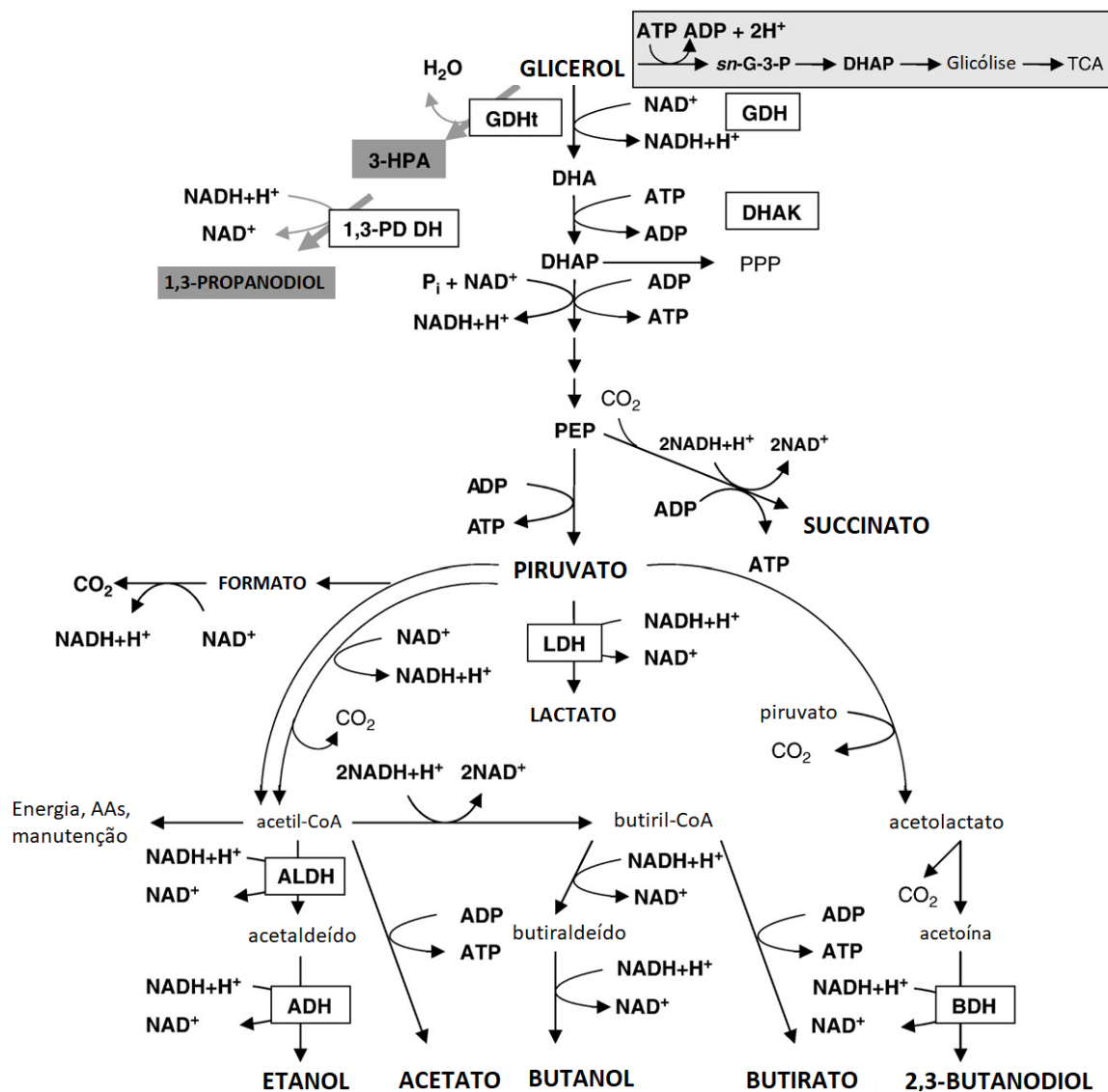


Figura 2.4.1 - Esquema da conversão de glicerol em PDO e diversos outros subprodutos no metabolismo celular. As reações que levam ao PDO estão marcadas de cinza escuro, e o quadro sombreado representa o metabolismo aeróbico. Os quadros transparentes indicam as enzimas, cujos nomes estão abreviados. Abreviações: GDHt – glicerol desidratase; 1,3-PD DH – 1,3-propanodiol desidrogenase; GDH – glicerol desidrogenase; DHAK – diidroxiacetona cinase; DHA – diidroxicetona; DHAP – diidroxiacetona fosfato; PEP – fosfoenolpiruvato; AAs – amino ácidos; *sn*-G-3-P – *sn*-glicerol-3-fosfato; TCA – ciclo do ácido tricarbóxico; PPP – via das pentoses-fosfato; LDH – lactato desidrogenase; ALDH – aldeído desidrogenase; ADH – álcool desidrogenase; BDH – 2,3-butanodiol desidrogenase (adaptado de Celinska, 2010).

Para alcançar eficiência compatível com o nível industrial, cientistas da DuPont e Genencor International selecionaram as variações de enzimas mais resistentes à inibição por glicerol e PDO, e conseguiram isso ao utilizar genes de *Salmonella enterica* para formar uma enzima modificada. Genes de *S. cerevisiae* e *K. pneumoniae* também foram empregados na modificação da *E. coli*, assim como genes responsáveis por reações indesejadas foram eliminados. A escolha pelo metabolismo aeróbico tem o intuito de reduzir a produção de subprodutos ácidos (Nakamura e Whited, 2003).

De fato, a utilização de oxigênio pode melhorar o processo ao beneficiar o crescimento celular e reduzir produção de inibidores. Chen e colaboradores (2003) demonstraram que as condições microaeróbicas podem ser até duas vezes mais eficazes do que a fermentação anaeróbica. Cheng *et al.* (2004), por sua vez, observaram que a elevação do nível de oxigênio pode diminuir o efeito

inibitório ao reduzir a produção de etanol e acetato, mas tem como resultado final uma queda no rendimento por desfavorecer a produção do PDO por acumular ácido lático e 2,3-BDO.

A produção de compostos secundários, apesar de poder ser reduzida, não pode ser completamente evitada e, por isso, os estágios de purificação do PDO são uma parte relevante e onerosa do processo. Dependendo do nível de pureza requisitado, a recuperação pode representar mais de 50% do custo de produção (Xiu e Zeng, 2008; Silva *et al.*, 2014).

A recuperação do PDO é dificultada pelas próprias características do composto, que é bastante hidrofílico e possui temperatura de ebulição relativamente elevada (214°C). Originalmente, a recuperação envolve uma etapa de remoção dos sólidos (centrifugação ou filtração), outra para separação primária do PDO e remoção de impurezas, e um último processo de evaporação a vácuo ou cromatografia líquida. A separação primária pode incluir: evaporação para retirar água, etanol e ácido acético; eletrodialise para dessalinização; precipitação e cristalização de sais e proteínas; extração por solvente ou reativa; cromatografia de troca iônica; adsorção em carvão ativado ou peneira molecular; pervaporação (Xiu e Zeng, 2008).

O problema da evaporação é que, apesar de ser simples, requer muita energia e precisa antes de uma etapa de remoção de sais e proteínas. Isto pode ser feito com eletrodialise, mas com perdas significativas de PDO no processo. A cromatografia, por sua vez, consegue boa separação, mas acaba por diluir o PDO ainda mais, além de alto consumo energético, enquanto que a extração líquido-líquido ou reativa não são eficazes o bastante (Xiu e Zeng, 2008). Pode-se perceber que, de fato, a purificação é parte complexa do processo e encontrar meios mais eficazes e menos onerosos é essencial para a competitividade do bio-PDO no mercado. Como já mencionado, não é informado o processo empregado pela DuPont.

Existem diferentes propostas para o processo de purificação na literatura. Anand *et al.* (2011) sugeriram a utilização de um estágio de microfiltração para retirada da biomassa do caldo de fermentação e de carvão ativado para remoção das proteínas solúveis e outras impurezas. A obtenção do PDO final seria alcançada após destilação a vácuo, gerando os cristais de sais inorgânicos, seguida de cromatografia em sílica gel como fase estacionária e mistura de clorofórmio e metanol como fase móvel. O método é eficaz ao obter PDO com 98% de pureza, mas possui problemas de uso de substâncias perigosas como clorofórmio e metanol e uma perda de quase 25% do PDO ao longo do processo. Outra proposta é a utilização do método de *salting out* com K_3PO_4 e extração líquida com etanol, separando o caldo em duas fases, com o topo contendo PDO, solvente e outros coprodutos que podem ser separados por destilação (Wischnal *et al.*, 2017).

2.4.2 Alternativas tecnológicas atuais e para o futuro

Apesar de ser naturalmente produzido, desenvolver alternativas de bioprocessos requer a superação de barreiras complicadas. O primeiro gargalo a ser resolvido na manipulação genética para produzir PDO é a manutenção do balanço de oxidação e redução ao mesmo tempo em que se reduz a metabolização de subprodutos inibitórios. A desativação de processos que levam a substâncias indesejadas pode elevar a eficiência no consumo do glicerol, mas ao mesmo tempo estes processos podem ser necessários para manter o equilíbrio de oxirredução. A inibição também é um sério problema, porque o próprio PDO e o 3-HPA podem ser tóxicos para as células. A atividade enzimática pode, também, ser dependente de vitamina B12 em produtores naturais, sendo este nutriente um custo que não pode ser menosprezado (Celinska, 2010).

A decisão da DuPont por reduzir as duas etapas (transformação de glicose em glicerol e do glicerol em PDO) em apenas um estágio nos parece acertada, apesar da maior complexidade. É possível comparar com um estudo publicado por Mendes *et al.* (2011), em que foi realizada a

fermentação em dois estágios utilizando *S. cerevisiae* para conversão da glicose e *Clostridium acetobutylicum* para fermentação do glicerol, com resultados muito abaixo dos aceitáveis para produção em escala comercial, com produtividade máxima de $0,16 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Apesar de que a comparação seria mais apropriada se fosse empregada também a *E. coli* para a produção em dois estágios, é válido demonstrar os problemas inerentes de se produzir desta maneira. Este método apresenta problema com a inibição por excesso de glicose e na inoculação de uma nova cultura no biorreator, e o meio no qual ocorre a transformação da glicose em glicerol pode não ser viável para a outra etapa e requerer adaptações como a retirada de oxigênio e redução do nível de glicose, além de limitar as opções de biocatálise (Mendes *et al.*, 2011).

Porém, com o glicerol cada vez mais abundante, mais promissor do que condensar as duas etapas de produção é eliminar a necessidade da primeira. Este procedimento tem sido muito investigado, em especial a fermentação anaeróbica com bactérias dos gêneros *Clostridium*, *Enterobacter* e *Lactobacillus* (Lee *et al.*, 2015). A dificuldade está em conseguir níveis de produção iguais ou melhores que da produção com glicose, como realizado pela *E. coli* da DuPont, sendo um dos problemas o fato de que os microrganismos viáveis para o processo sofrem com a interferência de subprodutos inibitórios derivados do piruvato, que também é metabolizado do glicerol.

Bactérias como a *Klebsiella pneumoniae* podem naturalmente produzir PDO a partir do glicerol tanto sob condições microaeróbicas quanto anaeróbicas. Um estudo de Rossi *et al.* (2013) demonstrou que o cultivo em batelada sob microaeração consome o glicerol mais rapidamente e possui rendimento de $0,33 \text{ mol}_{\text{PDO}}.\text{mol}^{-1}_{\text{glicerol}}$, contra $0,46 \text{ mol}_{\text{PDO}}.\text{mol}^{-1}_{\text{glicerol}}$ do processo anaeróbico. Em processo de batelada alimentada os resultados ficam mais próximos sob ambas as condições, mas ainda com vantagem para as condições anaeróbicas, que obtiveram maior produtividade ($2,6 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Mas Cheng *et al.* (2004) demonstraram que, sob determinadas circunstâncias, a microaeração pode ter efeitos positivos com *K. pneumoniae*: testes realizados em que a fermentação anaeróbica foi sucedida por um segundo período de fermentação microaeróbica mostraram maior concentração final de PDO do que o processo unicamente anaeróbico; 70 g.L^{-1} ante 59 g.L^{-1} .

A solução para isto passa em grande parte pela manipulação genética. Zhang *et al.* (2006) conseguiram anular os genes responsáveis pela conversão do piruvato em etanol em *K. pneumoniae* e atingiram uma taxa de conversão para PDO de praticamente $0,7 \text{ mol}_{\text{PDO}}.\text{mol}^{-1}_{\text{glicerol}}$ (quase $0,58 \text{ g}_{\text{PDO}}.\text{g}^{-1}_{\text{glicerol}}$). Resultados semelhantes foram obtidos quando outros subprodutos são reduzidos ou eliminados pela interrupção dos caminhos metabólicos. A remoção de produtos inibidores *in situ* também pode ter efeitos positivos (Lee *et al.*, 2015).

Até o momento, a melhor performance de bioprocesso para PDO de glicerol foi obtida em um estudo publicado por Wilkens *et al.* (2012), em que os pesquisadores encontraram uma cepa de *Clostridium butyricum* capaz de fermentar anaerobicamente glicerol, em batelada alimentada, com elevada eficiência. Quando utilizado glicerol puro, uma concentração de $93,7 \text{ g.L}^{-1}$ de PDO foi registrada, o que ainda se mostra inferior quando comparado aos 135 g.L^{-1} da *E. coli* desenvolvida pela DuPont. Porém, a produtividade média de $3,3 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ foi muito semelhante. Os autores também realizaram testes com glicerol residual cru, proveniente da produção de biodiesel, obtendo concentração de $76,2 \text{ g.L}^{-1}$ de PDO e produtividade média considerável de $2,3 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Não houve notável diferença de produtividade entre glicerol puro e residual até ser atingida a concentração de 60 g.L^{-1} , e em ambos os casos a conversão final foi semelhante: $0,52 \text{ g}_{\text{PDO}}.\text{g}^{-1}_{\text{glicerol}}$ com puro e $0,51 \text{ g}_{\text{PDO}}.\text{g}^{-1}_{\text{glicerol}}$ com glicerol residual cru.

Outras espécies de *Klebsiella* e *Clostridium* conseguiram resultados até melhores no rendimento, mas ficaram aquém quando considerada a produtividade. Destaca-se o fato de que o

microrganismo utilizado pelo grupo de Wilkens (2012) não foi geneticamente modificado, sendo o melhor produtor natural encontrado até o momento, de forma que acredita-se ter grande potencial para a bioprodução do PDO no futuro. Mas deve-se destacar que a *C. butyricum* é uma bactéria estritamente anaeróbica, o que acarreta em maior dificuldade ao empregá-la em uma biorrefinaria.

O maior desafio a ser superado no desenvolvimento de biorrefinarias de PDO parece ser encontrar uma solução para a formação de produtos secundários indesejados. Ácido láctico, ácido butírico e etanol são apenas alguns dos subprodutos da fermentação que tem impacto inibitório. Reduzir a produção destas substâncias e/ou removê-las do caldo de forma eficiente pode não apenas melhorar a eficiência do processo como um todo como também facilitar o processo de recuperação.

Além dos microrganismos já citados, o uso de bactérias do gênero *Lactobacillus* tem sido estudado, mas sem ainda alcançar elevadas concentrações de PDO. Ainda assim, existe potencial para futuros desenvolvimentos com este microrganismo, devido a sua alta taxa de conversão. Kang e colaboradores (2014) obtiveram rendimento de $0,72 \text{ g}_{\text{PDO}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{glicerol}}$ (e concentração de $16,23 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) em fermentação batelada sob pH controlado em 4,5, utilizando *Lactobacillus panis* geneticamente modificada. O interessante deste estudo foi também o substrato utilizado: os autores empregaram rejeito líquido de baixo valor da produção de bioetanol, geralmente usado para ração animal, e não realizaram adição de nutrientes mais dispendiosos ao caldo para atingir estes valores. Apesar de que a concentração de PDO não atingiu nível comparável com a produção da DuPont, esta tecnologia pode ser um instrumento relevante para o aproveitamento de glicerol residual.

É possível observar que existem diversos ângulos diferentes de pesquisa com diferentes bactérias, mas a *E. coli* geneticamente modificada é atualmente uma das melhores bactérias para a produção em escala comercial, de forma que se busca adaptar a célula para que seja capaz de aproveitar diretamente o glicerol em vez de iniciar a produção partindo da glicose. Apesar de não ser uma produtora natural do PDO, a bactéria possui grande maleabilidade na manipulação genética e possui relação próxima com a *K. pneumoniae*, que por sua vez produz o PDO naturalmente (Celinska, 2010). Dabrowski e colaboradores (2012) recombinaram os genes de *E. coli* com *C. butyricum* e obtiveram uma concentração de $3,7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de PDO, a partir do glicerol, com taxa de conversão de $0,3 \text{ g}_{\text{PDO}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{glicerol}}$, e Przystalowska *et al.* (2015) utilizaram genes de *Citrobacter freundii*, para obter quase $0,48 \text{ g}_{\text{PDO}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{glicerol}}$; número ainda inferior ao do processo com glicose mas consideravelmente próximo.

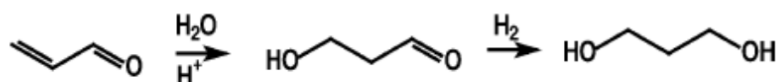
O grupo de Przystalowska (2015) cita os empecilhos no processo, alguns comuns a outros experimentos: alta sensibilidade com relação aos parâmetros do processo (configuração de pás de agitação, por exemplo), acúmulo de 3-HPA e inibição por excesso de glicerol. Para contornar estes últimos, os pesquisadores sugerem elevar a produção de enzimas para consumo do 3-HPA e a utilização de processo em batelada alimentada para manter a concentração de glicerol a níveis aceitáveis. Estas não foram medidas tomadas pelos autores, cujo foco do estudo era a viabilidade da produção e não sua otimização, de forma que são necessários mais estudos para que se possa confirmar a existência de potencial para a produção de PDO a partir de glicerol via *E. coli*.

Chatzifragkou *et al.* (2011) conseguiram bons resultados com *C. butyricum*, alcançando rendimento de $0,55 \text{ g}_{\text{PDO}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{glicerol}}$ e concentração de PDO de $67,9 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ em batelada alimentada. O grupo também realizou experimentos com fermentação contínua e obtiveram resultados inferiores: em reator CSTR e glicerol industrial como substrato, a concentração final foi de apenas $30,1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, e conversão de $0,52 \text{ g}_{\text{PDO}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{glicerol}}$. O processo em batelada alimentada novamente mostrou-se mais indicado, mas neste mesmo estudo os autores foram capazes de demonstrar que a produtividade é praticamente a mesma em caldos esterilizados e não-esterilizados.

2.4.3 Comparação com a rota química

A maior parte do PDO produzido é proveniente de acroleína ou óxido de etileno, ambos dependentes do petróleo. Assim como a produção metabólica, estes métodos consistem na transformação da matéria-prima em 3-HPA como intermediário, para que ocorra então sua hidrogenação em PDO. Ambos estão representados na Figura 2.4.2.

Processo a partir de acroleína



Hidrocarbonilação de óxido de etileno

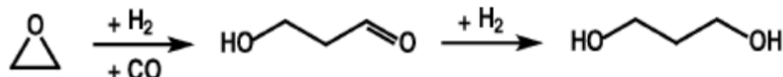


Figura 2.4.2 - Representação das reações químicas para produção do PDO a partir de acroleína e óxido de eteno (adaptado de Haas *et al.*, 2005).

O processo de transformação da acroleína em PDO foi desenvolvido pela Degussa-Huels na década de 1990, e posteriormente vendido para a DuPont. A acroleína tem custo relativamente baixo, por ser facilmente obtida da oxidação de propeno, mas é um tanto problemática devido à sua tendência de polimerizar-se e a ser perigosa para a saúde (Lee *et al.*, 2015). Apenas duas etapas são necessárias: a hidratação da acroleína em 3-HPA e a hidrogenação.

Para o primeiro passo, este processo tem a vantagem de ocorrer em temperaturas moderadas, necessariamente abaixo dos 100°C, o que por outro lado acaba por demandar a utilização de catalisador de grande atividade. Estes catalisadores podem ser resinas de troca iônica especiais, contendo altas concentrações de grupos bifuncionais ácidos e básicos. Uma solução tampão também deve ser empregada para manter o pH entre 2,5 e 5 (Haas *et al.*, 2005).

A hidrogenação costuma ocorrer em reator trifásico, podendo-se optar entre diferentes catalisadores metálicos, como o níquel de Raney, platina ou rutênio em carvão ativado, ou óxidos de titânio, alumínio ou silicone. Catalisadores mais baratos como o níquel apresentam risco de contaminação e acabam gerando a necessidade de etapas de purificação, de forma que a escolha por metais nobres se torna preferível. Ao fim do processo são gerados subprodutos carbonílicos, incluindo compostos alifáticos saturados que podem ser contaminantes problemáticos na polimerização do PDO, e a solução para isso é uma outra etapa adicional de hidrogenação a temperaturas entre 110°C e 150°C (Haas *et al.*, 2005).

O processo que utiliza óxido de etileno como ponto de partida foi desenvolvido também na década de 1990 e é atualmente empregado pela holandesa Shell. A reação com hidrogênio e monóxido de carbono pode dar origem a diferentes produtos e, por isso, é crucial a escolha de um catalisador de boa seletividade e a manutenção de temperaturas brandas. Este catalisador pode ser baseado em ródio ou, no caso da Shell, em cobalto, e é utilizado para que ocorra a hidroformilação para 3-HPA. A hidrogenação para PDO pode ocorrer no mesmo estágio ou em um estágio posterior (Haas *et al.*, 2005).

Apesar do emprego de metais nobres (ou de etapas de adicionais de purificação) que elevam o custo do processo, a possibilidade de operar em condições brandas de aquecimento e pressão tornam os processos de certa forma atraentes. Pode-se observar também que nesse aspecto existe similaridade com o bioprocessos: condições amenas de processo, porém alto custo na recuperação devido a subprodutos problemáticos. A conversão final de matéria-prima em PDO nos processos químicos varia entre 85% e 90% (Haas *et al.*, 2005), o que lhes rende certa vantagem, mas a biocatálise possui o lado positivo de não requerer metais nobres ou substâncias perigosas. Os ganhos ambientais, também, não podem ser negligenciados.

De acordo com a própria DuPont, o seu bioprocessos gera cerca de 40% menos emissões de gases de efeito estufa do que a rota petroquímica (Kurian, 2005). Por ser uma estimativa da companhia fabricante, uma avaliação independente pode representar um valor baseado em critérios mais aprofundados. Urban e Bakshi (2009) realizaram um estudo comparativo do impacto ambiental de uma biorrefinaria genérica com a conversão de açúcar de milho em PDO através de *E. coli* e do impacto da produção baseada em óxido de etileno. Diferentes métodos de avaliação foram empregados, e no pior cenário as emissões gasosas do bio-PDO representam cerca de 45% menos que a produção petroquímica e consumo energético aproximadamente 55% inferior. Na melhor estimativa, a bioprodução emite apenas 30% dos gases e consome 32% da energia. O contraponto está no potencial de eutrofização, que varia entre valores de 18% a quase 190% superiores ao da produção tradicional.

2.4.4 *Produção no Brasil*

Para determinar a possibilidade de bioprodução no Brasil, primeiramente verificou-se a capacidade da demanda pelo composto. A principal aplicação do PDO é a polimerização em PTT, um material relativamente novo no mercado e que ainda busca conquistar espaço, sendo um concorrente do PET e do PBT.

A resina PET é amplamente utilizada no país, mas a sua produção local é apropriada para a aplicação em garrafas (ABIQUIM, 2017), um mercado em que não parece haver competitividade do PTT em virtude do baixo custo necessário. A competição se daria em aplicações em que as características mecânicas superiores do PTT seriam um diferencial, como por exemplo, em fibras sintéticas (podendo inclusive ser empregado na indústria têxtil). Assim, o PTT produzido localmente poderia ser um substituto de importações de PET, que nos últimos anos variaram entre 45 mil e 159 mil toneladas anuais em dados da Receita Federal (sem distinção entre aplicação final). O PBT não é produzido no Brasil e é considerado um plástico de engenharia, podendo representar um mercado mais aberto ao PTT, mas o volume do material utilizado no país é relativamente baixo, variando entre 7,7 e 10 mil toneladas anuais nos últimos quatro anos.

Pode-se concluir que a bioprodução de PDO no Brasil teria de ser voltada para transformação em PTT, uma vez que teria grande concorrência em suas outras aplicações (em solventes, revestimentos e compósitos). Uma consequência desta dificuldade é que não há registro de produção ou importação de PDO no país em quantidade relevante durante 2016 e 2017, seja de bioprodução ou não.

O PTT também ainda é praticamente inexistente no mercado brasileiro, mas isso pode mudar com o início de uma produção nacional que consiga custos competitivos, o que acreditamos que pode ser feito com o advento de novas tecnologias. A possibilidade de obtenção do PDO diretamente do glicerol é um grande diferencial que pode agregar valor diretamente na cadeia produtiva do biodiesel. O aperfeiçoamento tecnológico para que seja viável o bioprocessos partindo do glicerol em vez de glicose parece ser uma questão de tempo, e uma vez acontecendo, o Brasil

tem motivos para se tornar um produtor mesmo que, inicialmente, em quantidades moderadas. Esta previsão é compartilhada por estudo publicado pela Grand View Research em 2015, que colocou o Brasil como um dos principais mercados para a produção de PDO no futuro próximo (GVR, 2015).

3 Conclusões

Foram analisados os métodos vigentes de produção de três compostos intermediários em diferentes estágios de inserção mercadológica. O bio-AS já alcançou competitividade superior ao de origem petroquímica, com diferentes processos já desenvolvidos e com alternativas promissoras sendo pesquisadas. O BDO não é naturalmente produzido e é bastante desafiador para a elaboração de bioprocessos, e até agora apenas uma empresa, a Genomatica, conseguiu desenvolver um método viável de bioprodução. O PDO pode ser obtido a partir do glicerol, mas as dificuldades de otimização do metabolismo e de purificação geram custos que até agora têm complicado o deslançar de sua bioprodução.

As comparações com os processos tradicionais indicaram o que já era esperado, que é a considerável vantagem ambiental em substituir os derivados de combustíveis fósseis pela biomassa, apesar da complexidade nas etapas de separação em alguns processos. Neste aspecto, podemos ressaltar a tecnologia desenvolvida pela Reverdia para bioprodução do AS, que não requer agentes neutralizantes e simplifica a recuperação. A dispensa de utilização de metais nobres ou de substâncias perigosas também são fatores positivos que incentivam o desenvolvimento destes bioprocessos, apesar de que o método tradicional é relativamente simples. A comparação de custos foi apenas possível no caso do Bio-AS, uma vez que não foram encontrados dados o suficiente sobre o custo e/ou preço do bio-BDO e bio-PDO, e também deve-se mencionar que é possível que as biorrefinarias recebam alguma espécie de subsídio governamental para que se tornem competitivas, apesar de que não foi possível determinar se é este o caso para as unidades em questão.

Uma dificuldade comum entre os compostos analisados é a presença de subprodutos inerentes do metabolismo celular, que desviam recursos e podem atuar como inibidores, além da necessidade de separá-los do produto final. Isso faz com que a manipulação genética seja essencial para que estes processos sejam viáveis tanto do ponto de vista econômico quanto operacional. As pesquisas neste campo podem viabilizar a produção de compostos não obtidos naturalmente, como no caso do BDO, eliminar ou ao menos reduzir a formação de subprodutos e intensificar a produção das substâncias desejadas. Estas pesquisas abrem um leque de possibilidades tão grande e possuem diversas abordagens, de forma que não seria possível elaborar neste trabalho.

Existe viabilidade de produção destes compostos no Brasil, aproveitando a grande oferta de biomassa e o excedente de glicerol. Esse potencial produtor pode se tornar muito maior se forem bem-sucedidas as tentativas de desenvolver a produção de AS e PDO diretamente do glicerol, o que poderia dar destino lucrativo para o resíduo da produção de biodiesel no país. Enquanto que já existe um acordo entre a brasileira Braskem e a Genomatica para bioprodução do butadieno, não há nenhuma garantia de que a parceria renderia uma biorrefinaria de BDO no Brasil. Os principais empecilhos no país são alheios aos bioprocessos e matérias-primas: a falta de mercado consumidor, a necessidade de construção de uma cadeia produtiva para aproveitar estes compostos e a de abrir canais de exportação indicam que estes bioprocessos teriam um início tímido no Brasil.

4 Referências

ABIOVE. **Biodiesel: entrega e produção: dados de produção e entrega de biodiesel no Brasil.** Associação Brasileira das Indústrias de Óleos vegetais. Disponível em: <<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=estatistica&area=NC0yLTE=>>. Acesso em: 15/11/2017.

ABIQUIM. **Associação Brasileira da Indústria Química**, 2017. Disponível em: <http://canais.abiquim.org.br/braz_new/Resultado.aspx?busca_por=produtos&busca_texto=>. Acesso em: 08/12/2017.

AGHAZIARATI, M. *et al.* Evaluation of Zeolites in Production of Tetrahydrofuran from 1,4-butanediol: Performance tests and kinetic investigations. **Ind. Eng. Chem. Res.**, 2007. v. 46, p. 726-733.

ANAND, P. *et al.* A novel downstream process for 1,3-propanediol from glycerol-based fermentation. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2011. v. 90, p. 1267-1276.

ANDREOZZI, S. *et al.* Identification of metabolic engineering targets for the enhancement of 1,4-butanediol production in recombinant *E. coli* using large-scale kinetic models. **Metabolic Engineering**, 2016. v. 35, p. 148-159.

BBWN. Novamont opens world's first plant for the production of bio-based butanediol on industrial scale. **Bio-Based World News**, 2016. Disponível em: <<https://www.biobasedworldnews.com/novamont-opens-worlds-first-plant-for-the-production-of-bio-based-butanediol-on-industrial-scale>>. Acesso em: 18/11/2012.

BECKER, J. *et al.* Top value platform chemicals: bio-based production of organic acids. **Current Opinion in Biotechnology**, 2015. v. 36, p. 168-175.

BIEBL, H. *Et al.* Microbial production of 1,3-propanediol. **Appl Microbiol Biotechnol**, 1999. v. 52, p. 289-297.

BRASKEM. **Genômica e Braskem confirmam produção direta de butadieno renovável em laboratório.** Braskem, 23 Novembro 2015. Disponível em: <<http://braskem.com.br/detalhe-noticia/genomica-e-braskem-confirmam-producao-direta-de-butadieno-renovavel-em-laboratorio>>. Acesso em: 17/11/2017.

BURGARD, A. *et al.* Development of a commercial scale process for production of 1,4-butanediol from sugar. **Current Opinion in Biotechnology**, 2016. v. 42, p 118-125.

CAO, Y. *et al.* Fermentative succinate production: an emerging technology to replace the traditional petrochemical processes. **BioMed Research International**, 2013. v. 2013, p. 1-12. Disponível <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/723412>>.

CHATZIFRAGKOU, A. *et al.* Production of 1,3-propanediol by *Clostridium butyricum* growing on biodiesel-derived crude glycerol through a non-sterilized fermentation process. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2011. v. 91, p. 101-112.

CHENG, K. *et al.* 1,3-Propanediol production by *Klebsiella pneumoniae* under different aeration strategies. **Biotechnology Letters**, 2004. v. 26, p. 911-915.

CHENG, K. *et al.* Downstream processing of biotechnological produced succinic acid. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2012.

CHUNG, H. *et al.* Bio-based production of monomers and polymers by metabolically engineered microorganisms. **Current Opinion in Biotechnology**, 2015. v. 36, p. 73-84.

COK, B. *et al.* Succinic acid production derived from carbohydrates: An energy and greenhouse gas assessment of a platform chemical toward a bio-based economy. **Biofuels, Bioprod. Bioref**, 2014. v. 8, p. 16-29.

DABROWSKI, S. *et al.* 1,3-Propanediol production by *Escherichia coli* expressing genes of *dha* operon from *Clostridium butyricum* 2CR371.5. **A&A Biotechnology**, 2012. v. 59, p. 357-361.

ERICKSON, B. *et al.* Perspective on opportunities in industrial biotechnology in renewable chemicals. **Biotechnol. J.**, 2012. v. 7, p. 176-185.

FOC. **Biosourced butadiene: alliance between Braskem and Genomatica**. Focus on Catalysts, 2014. February, p. 3.

FORTE, A. *et al.* LCA of 1,4-butanediol produced via direct fermentation of sugars from wheat straw feedstock within a territorial biorefinery. **Materials**, 2016. v. 9, n. 563.

GVR. **1,3 Propanediol (PDO) market analysis by application (polytrimethylene terephthalate (PTT), polyurethane, personal care & detergents) and segment forecasts to 2022**. Grand View Research Inc, 2015. Disponível em: <<http://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/1-3-propanediol-pdo-market>>. Acesso em: 01/12/2017.

HAAS, T. *et al.* New diol processes: 1,3-propanediol and 1,4-butanediol. **Applied Catalysis A: General**, 2005. v. 280, p. 83-88.

HAVEREN, J. *et al.* Bulk chemicals from biomass. **Biofuels, Bioprod. Bioref.**, 2008. v. 2, p. 41-57.

HERMANN, B.; PATEL, M. Today's and tomorrow's bio-based bulk chemicals from white biotechnology. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 2007. v. 136, p. 361-388.

JANSEN, M.; GULIK, M. Towards large scale fermentative production of succinic acid. **Current Opinion in Biotechnology**, 2014. v. 30, p. 190-197.

LOOKCHEM. **Manufacture of 1,4-butanediol**. LookChem, 2017. Disponível em <<http://www.lookchem.com/Chempedia/Chemical-Technology/Organic-Chemical-Technology/7495.html>>. Acesso em: 20/11/2017.

KANG, T. *et al.* Bioconversion of glycerol to 1,3-propanediol in thin stillage-based media by engineered *Lactobacillus panis* PM1. **J Ind Microbiol Biotechnol**, 2014. v. 41, p. 629-635.

KANG, K. *et al.* Effect of boron content on 1,4-butanediol production by hydrogenation of succinic acid over Re-Ru/BMC (boron-modified-mesoporous carbon) catalysts. **Applied Catalysis A: General**, 2016. v. 524, p. 206-213.

KURIAN, J. A new polymer platform for the future – Sorona from corn derived 1,3-propanediol. **Journal of polymers and the environment**, 2005. v. 13, n. 2, p. 159-167.

LEE, C. *et al.* A review: Conversion of bioglycerol into 1,3-propanediol via biological and chemical method. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2015. v. 42, p. 963-972.

LI, C. *et al.* High efficiency succinic acid production from glycerol via *In situ* fibrous bed bioreactor with an engineered *Yarrowia lipolytica*. **Bioresource Technology**, 2017. v. 225, p. 9-16.

LIU, H.; LU, T. Autonomous production of 1,4-butanediol via a *de novo* biosynthesis pathway in engineered *Escherichia coli*. **Metabolic Engineering**, 2015. v. 29, p. 135-141.

MAM. **Succinic acid market by type (bio-based, petro-based), application (polyurethane, resins, coatings & pigments, pharmaceuticals, plasticizers, food & beverage, PBS/PBST, solvents & lubricants, de-icer solutions, personal care, and others), and by region – Global forecast to 2021.** Markets and Markets, 2016. Disponível em: <<http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/succinic-acid-market-402.html>>. Acesso em: 03/12/2017.

MCGROUP. **Butanediol (BDO): 2017 world market outlook and forecast up to 2027.** Merchant Research & Consulting Ltd, 2017. Disponível em: <<https://mcgroup.co.uk/researches/butanediol-bdo>>. Acesso em: 03/12/2017.

MCKINLAY, J. *et al.* Prospects for a bio-based succinate industry. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2007. v. 76, p. 727-740.

MENDES, F. *et al.* 1,3-Propanediol production in a two-step process fermentation from renewable feedstock. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2011. v. 92, p. 519-527.

NAKAMURA, C.; WHITED, G. Metabolic engineering for the microbial production of 1,3-propanediol. **Current Opinion in Biotechnology**, 2003. v. 14, p. 454-459.

NGHIEM, N. *et al.* Succinic acid: Technology development and commercialization. **Fermentation**, 2017. v. 3, n. 26.

NOVOMER. **Succinic acid and succinic anhydride.** Novomer. Disponível em: <<http://www.novomer.com/succinic-acid-and-succinic-anhydride>>. Acesso em: 04/12/2017.

ORJUELA, A. *et al.* A novel process for recovery of fermentation-derived succinic acid: Process design and economic analysis. **Bioresource Technology**, 2013. v. 139, p. 235-241.

PENTA-TRANSACTION. **Penta Transaction estatísticas on-line.** Disponível em: <<http://www.v4.penta-transaction.com>>. Acesso em 20/11/2017.

PINAZO, J. *et al.* Sustainability metrics for succinic acid production: A comparison between biomass-based and petrochemical routes. **Catalysis Today**, 2015. v. 239, p. 17-24.

PRZYSTALOWSKA, H. *et al.* 1,3-Propanediol production by *Escherichia coli* using genes from *Citrobacter freundii* ATCC 8090. **A&A Biotechnology**, 2015. v. 62, p. 589-597.

REVERDIA. **Biosuccinium sustainable succinic acid.** Reverdia. Disponível em: <<http://www.reverdia.com/products/biosuccinium>>. Acesso em: 07/12/2017.

RNR. **Butanediol Market 2017-2021 demand, trends, growth and manufacturers BASF, Dairen Chemical, LyondellBasell, Ashland Report say a new Research Report at ReportsnReports.** ReportsnReports, 2017. Disponível em: <<http://markets.businessinsider.com/news/stocks/Butanediol-Market-2017-2021-Demand-Trends-Growth-and-Manufacturers-BASF-Dairen-Chemical-LyondellBasell-Ashland-Report-say-a-new-Research-Report-at-ReportsnReports-1002227178>>. Acesso em: 03/12/2017.

ROSSI, D. *et al.* Biodiesel residual glycerol metabolism by *Klebsiella pneumoniae*: Pool of metabolites under anaerobiosis and oxygen limitation as a function of feeding rates. **Appl Biochem Biotechnol**, 2013. v. 169, n. 6, p. 1952-1964.

SHIN, J. *et al.* Production of bulk chemicals *via* novel metabolic pathways in microorganisms. **Biotechnology Advances**, 2013. v. 31, p. 925-935.

SHMORHUN, M. **Myriant succinic acid biorefinery**. DOE Bioenergy Technologies Office (USA), 2015a.

SHMORHUN, M. **MySAB Biorefinery Final Scientific/Technical Report**. DOE Bioenergy Technologies Office (USA), 2015b.

SILVA, G. *et al.* 1,3-Propanediol: Produção, aplicações e potencial biotecnológico. **Quim. Nova**, 2014. v.37, n. 3, p. 527-534.

SMIDT, M. A sustainable supply of succinic acid. **Euro Biotech News**, 2011. v. 10, n. 11-12, p. 70-71.

TACHIBANA, Y. *et al.* Chemical synthesis of fully biomass-based poly(butylene succinate) from inedible-biomass-based furfural and evaluation of its biomass carbon ratio. **Biomacromolecules**, 2010. v. 11, p. 2760-2765.

TAI, Y. *et al.* Engineering nonphosphorylative metabolism to generate lignocellulose-derived products. **Nature Chemical Biology**, 2016. v. 12, p 247-256.

TWEEL, W. **Sustainable succinic acid**. Roquette, 2010. Disponível em <https://www.dsm.com/content/dam/dsm/cworld/en_US/documents/oct-2010-dsm-roquette-bio-based-sustainable-succinic-acid.pdf>.

URBAN, R.; BAKSHI, B. 1,3-Propanediol from fossil versus biomass: A life cycle evaluation of emissions and ecological resources. **Ind. Eng. Chem. Res.**, 2009. v. 48, p. 8068-8082.

VASWANI, S. Bio-based 1,4-butanediol. **PEP Report 283**, 2012.

VASWANI, S. Bio-based succinic acid. **PEP Review 2010-14**, 2010.

VLYSIDIS, A. *et al.* Glycerol utilization for the production of chemicals: Conversion to succinic acid, a combined experimental and computational study. **Biochemical Engineering Journal**, 2011. v. 58-59, p. 1-11.

WANG, J. *et al.* Rational engineering of diol dehydratase enables 1,4-butanediol biosynthesis from xylose. **Metabolic Engineering**, 2017. v. 40, 148-156.

WERPY, T.; PETERSEN, G. Top value added chemicals from biomass: Volume I – Results of screening for potential candidates from sugars and synthesis gas. **U.S. Department of Energy**, 2004.

WEUSTHUIS, R. *et al.* Microbial production of bulk chemicals: development of anaerobic processes. **Trends in Biotechnology**, 2011. v.29, n. 4, p. 153-158.

WILKENS, E. *et al.* High-level production of 1,3-propanediol from crude glycerol by *Clostridium butyricum* AKR102a. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2012. v. 93, p. 1057-1063.

WISCHRAL, D *et al.* Effective and simple recovery of 1,3-propanediol from a fermented medium by liquid-liquid extraction system with ethanol and K₃PO₄. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cjche.2017.06.005>>.

XIU, Z.; ZENG, A. Present state and perspective of downstream processing of biologically produced 1,3-propanediol and 2,3-butanediol. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2008. v. 78, p. 917-926.

YAN, Q. *et al.* A fibrous bed bioreactor to improve the productivity of succinic acid by *Actinobacillus succinogenes*. **J Chem Technol Biotechnol**, 2014. v. 89, p. 1760-1766.

YIM, H. *et al.* Metabolic engineering of *Escherichia coli* for direct production of 1,4-butanediol. **Nature Chemical Biology**, 2011. v. 7, p. 445-452.

ZHANG, Y. *et al.* Inactivation of aldehyde dehydrogenase: A key factor for engineering 1,3-propanediol production by *Klebsiella pneumoniae*. **Metabolic Engineering**, 2006. v. 8, p. 578-586.

_____. Yeast-based route to succinic acid is best. **ICIS Chemical Business**, 2013. p. 27. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bbb.1427/abstract>.

_____. Genomatica comercializes bio-based BDO. **The Chemical Engineer**, 2013. v. 861, p. 21.