



PRODUÇÃO DE BUTANOL POR *CLOSTRIDIUM ACETOBUTYLICUM*

Sara Scomazzon Masiero¹, Luciane Ferreira Trierweiler¹, Jorge Otávio Trierweiler¹

¹ Grupo de Intensificação, Modelagem, Simulação, Controle e Otimização de Processos – GIMSCOP
Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)
R. Eng. Luis Englert, s/n. Campus Central. CEP: 90040-040 - Porto Alegre - RS - BRASIL,
E-MAIL: {sarasm, jorge}@enq.ufrgs.br

Resumo: Com o crescente interesse em produzir combustíveis e percursos químicos de fontes renováveis, a fermentação acetona, butanol etanol (ABE) por bactérias do gênero *Clostridium* surge novamente como uma opção a ser avaliada. As vantagens deste processo estão principalmente associadas ao potencial do butanol como combustível e à versatilidade do microrganismo para metabolizar diferentes fontes de carbono. Entretanto, existem importantes desafios a serem superados para sua viabilização econômica como reduzir a inibição do metabolismo celular pelos metabólitos produzidos durante a fermentação. Nesta revisão, serão abordados itens relevantes sobre a fermentação ABE como o potencial do butanol como combustível e químico primário, o microrganismo tradicionalmente utilizado neste processo e sua rota metabólica, desenvolvimentos na área de recuperação dos produtos e aspectos econômicos.

Palavras-chave: butanol, fermentação, *Clostridium acetobutylicum*, biocombustíveis

1. Introdução

A fermentação para produção de acetona, butanol etanol (ABE), tendo sido relatada pela primeira vez por Louis Pasteur em 1861, não pode ser considerada um processo novo tanto no campo da pesquisa como no industrial. No começo do século passado, a escassez de borracha natural já tornava este processo economicamente interessante por produzir butanol que era um potencial solvente na rota para obtenção do produto sintético. Ao eclodirem as duas guerras mundiais, a demanda por cordite para fabricação de munição impulsionou os estudos para produção em larga escala de acetona que era o solvente necessário para o processo. Então, considerável pesquisa e desenvolvimento foram destinados à fermentação ABE e várias unidades industriais foram colocadas em operação, tornando este o segundo processo fermentativo mais aplicado em escala industrial. Algumas destas unidades, localizadas na África do Sul e na Rússia, operaram até a década de 1980.

O declínio da indústria baseada na fermentação ABE coincide com o surgimento e o crescimento da indústria petroquímica. Analogamente a outros processos produtivos, os produtos desta fermentação não puderam competir economicamente com aqueles produzidos via rota petroquímica (Jones e Woods, 1986).

Atualmente, os aumentos no preço do petróleo, as perspectivas de que a demanda energética irá ultrapassar a capacidade das reservas e os compromissos com a questão

ambiental reacenderam o interesse por fontes de energia e processos produtivos baseados em matérias-primas renováveis. Neste novo cenário, a biomassa está sendo considerada a única opção de matéria-prima com capacidade para suprir as necessidades por combustíveis e químicos primários. Por isso, começa a surgir o conceito de biorrefinarias que vai ao encontro do atual conceito de refinarias, porém utilizando biomassa no lugar do petróleo (Eggeman e Verser, 2006; Bastos, 2007)

Se uma biorrefinaria pode ser definida como uma instalação onde biomassa é convertida em combustível e/ou outros químicos de interesse, processos fermentativos podem ser incluídos neste conceito. Assim, a fermentação ABE surge como opção a ser avaliada porque permite a produção de butanol, que possui características adequadas para ser utilizado como combustível, a partir de fontes renováveis. Em adição, tanto o butanol como os outros produtos deste processo, acetona e etanol, podem ser utilizados como precursores para produção de outros químicos de maior valor agregado.

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo fazer uma revisão sobre a fermentação ABE discutindo sobre os potenciais e os desafios do butanol como combustível e químico primário, do microrganismo tradicionalmente utilizado neste processo e de sua rota metabólica, dos desenvolvimentos na área de recuperação dos produtos e aspectos econômicos.

2. Butanol

Como combustível, o butanol apresenta vantagens em relação ao etanol, como poder ser visto na Tabela 1. Quando comparados com o etanol, ele apresenta número de octanagem e poder calorífico mais próximos aos valores da gasolina. Além disso, a utilização do butanol como combustível permite o aproveitamento da infra-estrutura de transporte já existente (*pipelines*) e também a sua mistura com a gasolina em qualquer proporção sem a necessidade de adaptação dos motores dos automóveis (Cascone, 2008).

Tabela 1: Propriedades do butanol, etanol e da gasolina como combustíveis.

	Butanol	Etanol	Gasolina
Massa específica (kg m ⁻³ a 20°C)	810	789	743
Poder calorífico inferior (MJkg ⁻¹)	32	27	43
Número de octanagem	86	100	87
Solubilidade em água (% a 25°C)	9	100	<0,01

Dentro do conceito de biorrefinarias, butanol também pode ser considerado um potencial “bloco de construção”, ou seja, um intermediário na produção de outros químicos com valor de mercado. Atualmente o butanol é comumente utilizado na produção de vários químicos como plastificantes, polidores, cosméticos, produtos para revestimento, tintas e cosméticos. Na Tabela 2, podem-se observar os principais usos do butanol consumido nos Estados Unidos, na Europa ocidental e no Japão.

Tabela 2: Percentual de uso do butanol como intermediário químico.

	Estados Unidos	Europa ocidental	Japão
Ésteres de acrilato	43	33	37
n-Butil ésteres	16	30	21
Glicol ésteres	27	16	21
Solvente	8	15	17
Plastificante	3	4	1
Outro	3	2	3

Fonte: *process economics program report Biobutanol, SRI International, Dezembro de 2008, páginas 3 e 4.*

3. Microrganismo

Butanol (acetona e etanol) é produzido naturalmente por diferentes espécies do gênero *Clostridium*. Estes microrganismos são bacilos gram-positivos, formadores de esporos e normalmente anaeróbios obrigatórios. Uma característica torna este gênero de bactérias especialmente interessante para produção de butanol: sua capacidade de metabolizar diferentes fontes de carbono como hexoses (glicose, frutose, manose, sucrose, lactose, galactose), pentoses (xylose e arabinose) e fontes de amido sem a necessidade de hidrólise dos polímeros de açúcares (García, Pääkkilä *et al.*, 2011; Jin, Yao *et al.*, 2011). Entre as espécies que produzem quantidades relevantes de butanol, podem-se citar: *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium*

beijerinckii, *Clostridium saccharobutylicum* e *Clostridium saccharoperbutylacetonicum*.

Atualmente, já existe um considerável número de trabalhos utilizando espécies geneticamente modificadas como *Clostridium beijerinckii* BA101. Entretanto, a espécie de ocorrência natural, *C. acetobutylicum*, ainda é mais estudada e já aplicada em larga escala para fermentação ABE (Green; Peter, 2011).

4. Metabolismo

Durante uma fermentação em batelada por *C. acetobutylicum*, duas fases distintas podem ser observadas. Na Figura 1, estão apresentadas as reações metabólicas mapeadas durante estas duas fases para este microrganismo.

A fase inicial é chamada acidogênese, durante a qual ocorre um crescimento celular exponencial com produção concomitante de dióxido de carbono, hidrogênio, ácido acético (acetato) e ácido butírico (butirato). Devido a produção dos ácidos orgânicos, observa-se uma progressiva diminuição do pH do meio de cultura. Ao final desta fase pHs em torno de 4,5 são geralmente atingidos. Quando a concentração de ácidos for suficientemente alta, o crescimento celular se torna estacionário e se inicia a segunda fase chamada solventogênese. Durante esta fase, os ácidos passam a ser consumidos juntamente com a fonte de carbono formando, então, acetona, butanol e etanol. Devido a reassimilação dos ácidos, nesta etapa normalmente se observa um aumento no pH do meio de cultura (Jones e Woods, 1986).

4.1. Transição para solventogênese

Acreditava-se que a transição da fase acidogênica para a solventogênica estava diretamente associado ao pH ao meio, porém estudos recentes demonstram que na verdade esta é induzida pela concentração de ácido butírico não dissociado. Em um destes estudos, Gottschal e Morris (1985) verificaram transição para solventogênese em uma batelada mesmo quando o pH mantido foi em 7 e altas concentrações de butirato foram adicionadas ao meio.

Entretanto, o pH apresenta significativa influência, uma vez que quanto menor o pH, maior será a concentração dos ácidos na forma não dissociada. Os resultados de Monot *et al.* (1984) já concluíam que biorreatores mantidos em pH próximo a 6 resultavam em uma produção pobre de solventes. Neste caso, como não havia alimentação suplementar de ácidos, era necessária uma grande concentração de ácido butírico para iniciar a solventogênese, levando a uma baixa concentração de solventes no final da batelada.

4.2. Inibição por butanol

O ponto limitante desta fermentação é a toxicidade dos solventes, principalmente do butanol. O metabolismo celular cessa quando a concentração de butanol atinge uma concentração de aproximadamente 13 gL⁻¹. Este solvente lipofílico é mais tóxico que os demais porque provoca o rompimento dos componentes fosfolipídicos da membrana aumentando, assim, a sua

fluidez (Lee, Park *et al.*, 2008).

5. Fermentação

Os processos industriais eram tipicamente em batelada sendo a recuperação dos solventes realizada por destilação. A preferência pelo modo de operação em batelada está relacionada com a simplicidade do mesmo e a diminuição de problemas com contaminação. Entretanto, esta opção leva não somente a baixa concentração de solventes no final da fermentação por inibição do butanol como também a baixa produtividade decorrente da longa fase lag e do tempo necessário para limpeza e esterilização dos equipamentos antes de cada batelada. Neste contexto, a máxima concentração de butanol tipicamente obtida em cepas não modificadas geneticamente é aproximadamente 13 gL⁻¹, como comentada na seção anterior. Sabendo também que a proporção observada entre é 3:6:1 (acetona:butanol:etanol), estima-se uma concentração máxima de solventes de 20 gL⁻¹ (Dürre, 2008).

O cultivo contínuo é uma alternativa para aumentar a produtividade, uma vez que diminui os tempos de preparação do sistema e adaptação do inóculo, entretanto, a concentração de solventes na saída do biorreator é normalmente menor que no processo batelada. Existem estudos que utilizam um ou dois estágios sendo a primeira opção considerada atualmente inviável para produção em

escala industrial devido a complexidade do metabolismo deste tipo de microrganismo. Em uma fermentação contínua em dois estágios, o primeiro estágio é dedicado a acidogênese (crescimento celular e a produção dos ácidos para indução da solventogênese) sendo operado em pH próximos a 6, enquanto, o segundo estágio é dedicado a solventogênese (reassimilação dos ácidos para produção de solventes) sendo mantido em pH próximo a 4,5. O segundo estágio deve ser maior e apresentar uma taxa de diluição menor que primeiro em decorrência da dinâmica mais lenta da etapa solventogênica (Awang, Jones *et al.*, 1988; Lee, Park *et al.*, 2008).

Já a batelada alimentada é uma opção interessante para aumentar tanto a concentração de butanol no produto final como a produtividade. Entretanto, uma vez que a inibição do metabolismo celular está relacionada com a concentração de butanol e não do substrato, só existe vantagem de aplicar este modo de operação quando um processo de recuperação dos solventes for aplicado de forma integrada a etapa de fermentação. (Jin, Yao *et al.*, 2011)

Técnicas de imobilização celular também podem propiciar um aumento na produtividade e na estabilidade operacional de reatores contínuos. As técnicas mais aplicadas a fermentação ABE são encapsulamento e adsorção. A segunda técnica é considerada mais simples

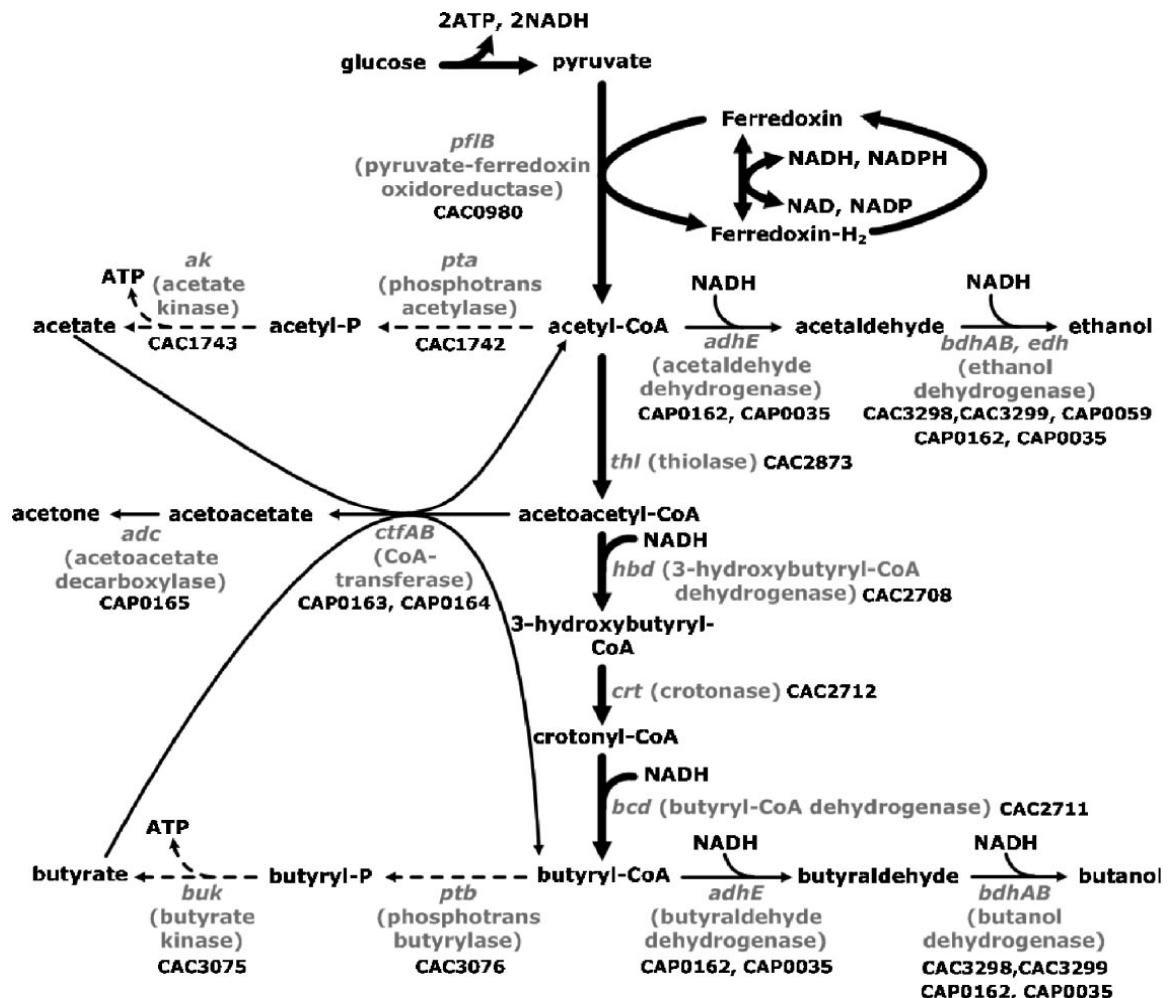


Figura 1: Rota metabólica de *C. acetobutylicum*. As reações predominantes na acidogênese estão indicadas por linhas tracejadas, enquanto as predominantes na solventogênese estão indicadas por linhas sólidas (Lee, Park *et al.*, 2008).

e tem apresentado melhores resultados em termos de produtividade. Já existem estudos publicados utilizando carvão ativado, madeira, tijolos, entre outros (Qureshi, Schripsema *et al.*, 2000).

6. Desenvolvimentos para recuperação dos solventes

O estudo de métodos para recuperação de solventes que possam ser realizados de forma integrada com a etapa de fermentação é a principal contribuição da área de desenvolvimento de processos para superação da principal limitação da fermentação ABE: inibição por butanol. Não existe ainda um consenso de qual técnica é mais eficiente e viável economicamente para este fim. Na década de 1990, foram estudadas principalmente a adsorção e o *stripping* de gás, enquanto, recentemente, investe-se mais extração líquido-líquido e pervaporação (García, Pääkilä *et al.*, 2011).

Na Tabela 3, está apresentado um quadro resumo de alguns estudos que obtiveram resultados positivos utilizando estas diferentes técnicas. Deve-se ressaltar que o prefixo “per” significa que a técnica de membrana foi utilizada conjuntamente como, por exemplo, perextração significa que uma membrana foi utilizada para retirar continuamente os produtos do meio de cultura e estes, em seguida, foram carregados por um líquido extrator.

Maddox *et al.* (1995) estudaram *stripping* de gás para diminuir o efeito inibitório do butanol. Os resultados obtidos mostraram um aumento 250% na concentração final dos produtos, enquanto, a produtividade foi mantida. Está técnica é considerada simples e, logo, interessante do ponto de vista econômico, sendo uma aposta para aplicação em escalas maiores. Em outro trabalho, Qureshi e Maddox (2005), estudou-se a perextração integrada à operação em batelada. Os resultados para concentração final dos produtos formam melhores que os citados anteriormente, entretanto, apresentaram uma queda na produtividade. Qureshi *et al.* (2005) também relataram bons resultados utilizando peradsorção integrada a uma operação em batelada alimentada e repetida. Neste estudo, não só a concentração final dos produtos foi superior ao processo em batelada sem a remoção de solventes integrada, como também a produtividade mostrou significativa melhora.

Já Izak *et al.* (2008) estudaram o efeito da pervaporação quando integrada a um processo contínuo. Foi observada uma melhora significativa na produtividade de solventes, enquanto, a concentração final dos produtos não foi superior a normalmente obtida no sistema em batelada sem remoção de solventes integrada. Entretanto, deve-se ressaltar que ainda assim os últimos resultados

obtidos foram positivo, sabido que processos contínuos sem remoção de solventes integrada tendem a apresentar valores de concentração final dos produtos inferiores aos obtidos em batelada.

Relacionada à técnica de extração, recentemente começou a ser estudada a aplicação de líquidos iônicos como extratores. Kaminski *et al.* (2011) propuseram a configuração apresentada na Figura 2. Considerando que os líquidos iônicos seriam adicionados diretamente ao biorreator e eliminariam a necessidade da utilização de membranas e bombas para separação dos solventes do meio de cultura, pode-se dizer que esta proposta traz simplificações interessantes. Adicionalmente, o fato de estes extratores possuírem pressão de vapor praticamente nula minimizando o escape dos mesmos traz vantagens quando comparados aos extratores usualmente utilizados. Entre elas, podem-se citar a eliminação da necessidade de reposição após determinado tempo de operação e a redução dos riscos a saúde dos operadores do processo associado ao caráter tóxico dos outros solventes já empregados como extratores.

7. Aspectos econômicos

Apesar da fermentação ABE estar atraindo renovado interesse pelo seu potencial de produção de um combustível renovável e sua inclusão dentro do novo conceito de biorrefinarias, ainda existem muitos desafios na direção de torná-lo mais atrativo do ponto de vista econômico (García, Pääkilä *et al.*, 2011). Usualmente os custos mais significativos neste processo produtivo são a matéria-prima (biomassa) utilizada e a energia necessária para separar os produtos (Gapes, 2000).

Por isso, estudos para utilização de biomassas baratas, ou seja, disponíveis, fazem-se necessários. Assim, resíduos, subprodutos e excedentes de outros processos se tornam potenciais candidatos. Nesta mesma perspectiva, a utilização de diferentes biomassas como substrato propicia maior flexibilidade e robustez econômica para fermentação ABE.

Em adição, desenvolvimentos que possibilitem a redução nos custos de recuperação e separação dos produtos se fazem necessários. Para tanto, pode-se aplicar engenharia genética para desenvolver microrganismos mais tolerantes ao butanol e/ou processos eficientes de remoção dos produtos integrados a etapa de fermentação possibilitando obter uma concentração final de produtos maior e, então, reduzir os posteriores custos de separação dos mesmos.

Tabela 3: Técnicas estudadas para a recuperação de solventes integrada a fermentação.

Técnica de recuperação	Substrato	Microrganismo	Modo de operação	Concentração o ABE (gL ⁻¹)	Produtividade ABE (gL ⁻¹ h ⁻¹)	Referência
Stripping de gas	Soro de leite (lactose)	<i>C. acetobutylicum</i>	Batelada	70	0,32	(Maddox, Qureshi <i>et al.</i> , 1995)
Perextração	Soro de leite (lactose)	<i>C. acetobutylicum</i>	Batelada	136,6	0,21	(Qureshi e Maddox, 2005)
Pervaporação	Glicose	<i>C. acetobutylicum</i>	Contínuo	12,44	1,38	(Izak, Schwarz <i>et al.</i> , 2008)
Peradsorção		<i>C. acetobutylicum</i>	Batelada repetida	387,3	1,69	(Qureshi, Hughes <i>et al.</i> , 2005)

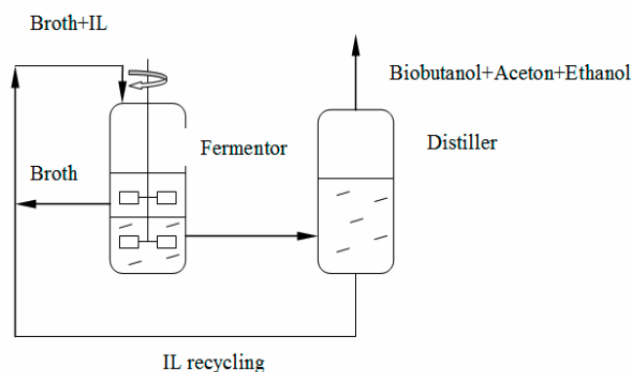


Figura 2: Configuração proposta por Kaminski *et al.* (2011) para aplicação de líquidos iônicos na recuperação dos solventes na fermentação ABE.

8. Estudo de caso

Neste item serão apresentados resultados de um estudo sobre a influência do controle de pH em fermentação ABE realizada em batelada repetida com células imobilizadas em esponja vegetal do tipo Loofa. Como comentado no item 5, a imobilização é interessante pois possibilita o aumento da concentração aumentando a produtividade de cultivos contínuos. Neste caso, a sua utilização objetiva eliminar a fase lag entre bateladas uma vez que a mesma cultura de microrganismo foi utilizada diversas vezes. Estes dados foram obtidos durante um curso de verão no laboratório de bioprocessos (*BioVerfahrensTechnik*) da Universidade de Dortmund realizado em 2011.

8.1 Materiais e Métodos

A bactéria utilizada neste estudo foi *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824. O pré-inóculo foi preparado em tubo de Hungate de 10mL e o inóculo em frascos de 100mL mantidos a 37°C por 16-20h. Ambos foram preparados em meio CGM (*Clostridium growing medium*), cujas concentrações estão apresentadas na Tabela 4, com 30gL⁻¹ de glicose. Uma vez que a bactéria utilizada é anaeróbia obrigatória, os frascos com meio CGM foram selados e nitrogênio foi borbulhado antes e depois da adição das células a fim de expulsar o oxigênio do meio.

Tabela 4: Composição do meio CGM. (Wiesenborn, Rudolph *et al.*, 1988)

Componentes	g.L ⁻¹
KH ₂ PO ₄	0,75
K ₂ HPO ₄	0,75
MgSO ₄ * 7 H ₂ O	0,7
MnSO ₄ * H ₂ O	0,01
FeSO ₄ * 7 H ₂ O	0,01
NaCl	1
(NH ₄) ₂ SO ₄	2
Extrato de levedura	5
L-Asparagina	2

A batelada repetida foi realizada em um biorreator de 500mL. Este foi autoclavado já contendo o meio CGM com 60gL⁻¹ de glicose e 3 g de esponja que foi utilizada como suporte para imobilização das células. A temperatura no biorreator foi mantida em 35°C por banho térmico, o pH foi controlado em 4,5 pela adição da base

NaOH. A agitação foi realizada por um agitador magnético mantido em 250rpm. Nitrogênio foi continuamente injetado ao meio para manter as condições de anaerobiose. O inóculo foi adicionado de forma que uma proporção de 0,01g de células por g de esponja foi atingida.

Amostras foram retiradas ao longo do experimento utilizando uma agulha esterilizada através de um septo de borracha. A concentração celular foi determinada através de densidade ótica (OD) utilizando um espectrofotômetro através de leituras em comprimento de onda de 600nm. Afim de que as concentrações medidas não ultrapasassem valores de OD iguais 1, foram realizadas diluições com solução de cloreto de sódio 0,9% quando necessário. As concentrações de glicose, acetona, butanol e etanol foram quantificadas através de análise em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). Para retirar o conteúdo celular das amostras, estas foram centrifugadas duas vezes. O HPLC utilizado possuía uma coluna Euroline, Eurokat feita de copolímero de estirenodivinilbenzeno sulfonado aquecida a 74°C e um detector de índice de refração Smartline RI 2300. Ácido sulfúrico 5 mM a 0,8 ml.min⁻¹ foi utilizado como eluente.

8.2 Resultados e Discussão

Três bateladas repetidas com células imobilizadas e controle de pH foram realizadas e os resultados estão apresentados na Figuras 3 e 4.

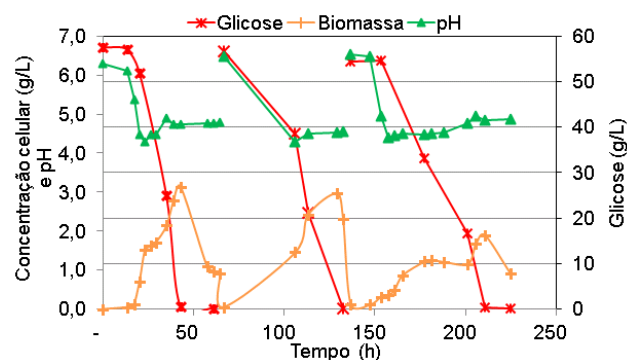


Figura 3: Concentração celular, consumo de glicose e pH ao longo das três bateladas repetidas.

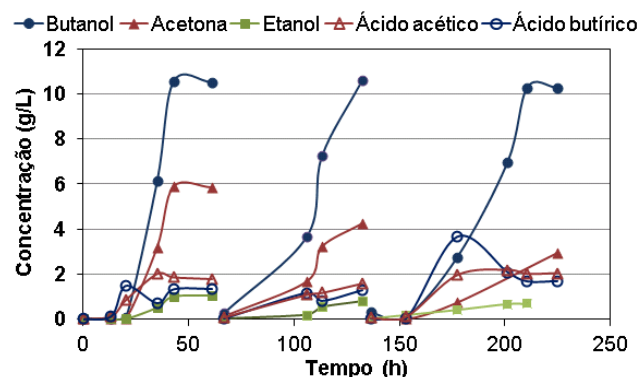


Figura 4: Concentração de ácidos e solventes ao longo das três bateladas repetidas.

As três bateladas duraram aproximadamente 60 horas cada. Pode-se observar que as três foram distintas quando se observa as curvas de concentração dos ácidos.

Tabela 5: Comparação dos resultados de bateladas repetidas com células imobilizadas com e sem controle de pH.

		Consumo de glicose [gL ⁻¹ h ⁻¹]	Produtividade de butanol [gL ⁻¹ h ⁻¹]	Produtividade de ABE [gL ⁻¹ h ⁻¹]	Seletividade Butanol [g/g glicose]	Seletividade ABE[g/g glicose]
pH controlado	Batelada 1	1,33	0,25	0,40	0,18	0,31
	Batelada 2	0,86	0,16	0,23	0,19	0,27
	Batelada 3	0,95	0,18	0,27	0,18	0,27
	Média	1,04	0,19	0,30	0,18	0,28
pH não controlado	Batelada 1	0,50	0,10	0,17	0,20	0,34
	Batelada 2	0,56	0,07	0,12	0,18	0,27
	Batelada 3	0,59	0,10	0,14	0,18	0,29
	Média	0,55	0,09	0,14	0,19	0,30

Entretanto, a glicose foi totalmente consumido mais de 10 gL⁻¹ de butanol foram produzidas em todas elas indicando estabilidade da técnica de imobilização aplicada ao sistema.

Estes resultados foram comparados com os de outro experimento realizado previamente por Redaelli (2010). Naquele experimento, uma fermentação ABE foi realizada em um frasco de 100 mL nas mesmas condições, mas sem controle de pH. A comparação da taxa de consumo de glicose, produtividade de solventes e seletividade está apresentada na Tabela 5. Pode-se observar que as seletividades para ABE foram praticamente idênticas nos dois experimentos, porém, a produtividade de solventes da seqüência de bateladas com controle de pH foi o dobro da sem controle de pH.

Esta diferença pode estar relacionada com a concentração de ácido butírico no meio de cultura. Existem relatos de fermentações nas quais a solventogênese foi iniciada, porém, a taxa de produção de ácidos era tão elevada que estes atingiram valores críticos provocando a parada do metabolismo. Este fenômeno é denominado acidente ácido. No experimento sem controle de pH, não ocorreu um acidente ácido, uma vez que houve consumo dos ácidos e produção de solventes em concentrações esperadas. Entretanto, o pH não sendo controlado pode ter permitido que uma concentração maior de ácido butírico fosse atingida e, então, houvesse uma desaceleração do metabolismo celular. Assim, pode-se dizer que o controle de pH apresentou efeito positivo no sistema em estudo levando a uma diminuição da duração das bateladas repetidas e, em consequência, um aumento da produtividade.

9. Conclusões

A busca por processos que possibilitem a produção de combustíveis e precursores química a partir de fontes renováveis é crescente. Assim, fatos como a adequação do butanol como combustível e sua diversa utilização como químico intermediário na indústria, começam a atrair novamente interesse para fermentação ABE.

Nesta revisão, foram discutidos os potenciais e limitações do microrganismo *C. acetobutylicum*, tradicionalmente utilizado neste processo. Acredita-se que o fato deste microrganismo ser capaz de metabolizar

diversas fontes de carbono, proporciona flexibilidade ao processo. Entretanto, a grande limitação da inibição do metabolismo celular por butanol ainda precisa ser superada.

Estudos sobre a aplicação de diferentes modos de operação buscam aumentar a produtividade do processo. A imobilização celular aparece como uma técnica que pode auxiliar na melhoria do desempenho destes sistemas. Um estudo de caso mostrou que o controle do pH pode aumentar a produtividade de sistemas operados em batelada repetida com imobilização celular.

Considerando-se essa grande limitação do processo, conclui-se que ainda existe espaço para avanços na área de desenvolvimento de processo através da aplicação de técnicas de remoção de solventes que sejam integradas a etapa de fermentação. A recente utilização de líquidos iônicos se apresenta como uma opção interessante.

Do ponto de vista econômico, os custos de matéria-prima e recuperação dos produtos se mostraram os mais importantes para definir a viabilidade ou não de um projeto. Assim, novamente a característica do microrganismo utilizar diferentes substratos se torna uma vantagem. Este fato possibilita trabalhar com um processo que use de forma conveniente diferentes matérias-primas a fim de minimizar os gastos com esta etapa da produção.

10. Referências

- AWANG, G. M. et al. The Acetone-Butanol-Ethanol Fermentation. *Critical Reviews in Microbiology*, v. 15, n. s1, p. S33-S67, 1988/01/01 1988.
- BASTOS, V. D. Etanol, álcool química e biorrefinarias. Rio de Janeiro. 2007
- CASCONE, R. Biobutanol - A replacement for bioethanol? *Chemical Engineering Progress: AIChE* 2008.
- DÜRRE, P. Fermentative Butanol Production. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1125, n. 1, p. 353-362, 2008.
- EGGEMAN, T.; VERSER, D. The importance of utility systems in today's biorefineries and a vision for tomorrow. *Applied biochemistry and biotechnology*, v. 129-132, p.

361-381, 2006.

GAPES, J. R. The economics of acetone-butanol fermentation: theoretical and market considerations. *J Mol Microbiol Biotechnol*, v. 2, n. 1, p. 27-32, 2000.

GARCÍA, V. et al. Challenges in biobutanol production: How to improve the efficiency? *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 15, n. 2, p. 964-980, 2011.

GREEN, E. M. Fermentative production of butanol--the industrial perspective. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 22, n. 3, p. 337-343,

HERRERO, A. A. et al. Growth inhibition of <i>Clostridium thermocellum</i> by carboxylic acids: A mechanism based on uncoupling by weak acids. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 22, n. 1, p. 53-62, 1985.

IZÁK, P. et al. Increased productivity of *Clostridium acetobutylicum* fermentation of acetone, butanol, and ethanol by pervaporation through supported ionic liquid membrane. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 78, n. 4, p. 597-602, 2008.

JIN, C. et al. Progress in the production and application of n-butanol as a biofuel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 15, n. 8, p. 4080-4106, 2011.

JONES, D. T.; WOODS, D. R. Acetone-Butanol Fermentation Revisited. *Microbiological Reviews*, v. 50, p. 484-524, 1986.

LEE, S. Y. et al. Fermentative butanol production by clostridia. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 101, n. 2, p. 209-228, 2008.

MADDOX, I. S.; QURESHI, N.; ROBERTS-THOMSON, K. Production of acetone-butanol-ethanol from concentrated substrate using *clostridium acetobutylicum* in an integrated fermentation-product removal process. *Process Biochemistry*, v. 30, n. 3, p. 209-215, 1995.

MONOT, F.; ENGASSER, J.-M.; PETITDEMANGE, H. Influence of pH and undissociated butyric acid on the production of acetone and butanol in batch cultures of *Clostridium acetobutylicum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 19, n. 6, p. 422-426, 1984.

PETER, D. Fermentative production of butanol—the academic perspective. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 22, n. 3, p. 331-336, 2011.

QURESHI, N. et al. Energy-efficient recovery of butanol from model solutions and fermentation broth by adsorption. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v. 27, n. 4, p. 215-222, 2005.

QURESHI, N.; MADDOX, I. S. Reduction in Butanol Inhibition by Perstraction: Utilization of Concentrated Lactose/Whey Permeate by *Clostridium acetobutylicum* to

Enhance Butanol Fermentation Economics. *Food and Bioproducts Processing*, v. 83, n. 1, p. 43-52, 2005.

QURESHI, N. et al. Continuous solvent production by *Clostridium beijerinckii* BA101 immobilized by adsorption onto brick. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 16, n. 4, p. 377-382, 2000.

REDAELLI, C.; SETLHAKU, M. Projeto do curso de verão da Universidade de Dortmund 2010.

KAMINSKI, W.; TOMCZAK, E.; GÓRAK, A. Biobutanol - Production And Purification Methods. *Ecological Chemistry and Engineering S*, V. 18, N. 1, 2011.

WIESENBORN, D. P.; RUDOLPH, F. B.; PAPOUTSAKIS, E. T. Thiolase from *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 and Its Role in the Synthesis of Acids and Solvents. *Applied and Environment Biology*, v. 54, n. 11, p. 2717-2722, 1988.