



ESTUDO REOLÓGICO DA MISTURA REACIONAL DA CONVERSÃO ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DE CANA: SELEÇÃO DO TIPO DE AGITADOR

**Leonardo Tupi Caldas Pereira
Lucas Tupi Caldas Pereira**

Projeto de Final de Curso

Orientadores

**Prof^ª Suely Pereira Freitas
Prof^ª Elba Pinto da Silva Bon**

Novembro de 2008

ESTUDO REOLÓGICO DA MISTURA REACIONAL DA CONVERSÃO ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DE CANA: SELEÇÃO DO TIPO DE AGITADOR

Leonardo Tupi Caldas Pereira
Lucas Tupi Caldas Pereira

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Graduação em Engenharia Química.

Aprovado por:

Leda Maria Fortes Gottschalk, D.Sc.

Judith L. Solórzano Lemos, D. Sc.

Elioni M. de A. Nicolaiewsky, D.Sc.

Orientado por:

Suely Pereira Freitas, D.Sc.

Elba Pinto da Silva Bon, Ph.D.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil
Novembro de 2008

Pereira, Leonardo Tupi Caldas.
Pereira, Lucas Tupi Caldas.
Estudo Reológico da Mistura Reacional da Conversão Enzimática do
Bagaço de Cana: Seleção do Tipo de Agitador
Leonardo Tupi Caldas Pereira e Lucas Tupi Caldas Pereira - Rio de
Janeiro: UFRJ/EQ, 2008.
xiv,75p.;il.
(Projeto Final) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de
Química, 2008.
Orientadores: Suely Pereira Freitas e Elba Pinto da Silva Bon
1. Bagaço de Cana 2. Reator de hidrólise 3. Reologia 4. Projeto
Final (Graduação – UFRJ/EQ). 5. Suely Pereira Freitas e Elba Pinto da
Silva Bon. I. Título.

*À nossa família pelo apoio, confiança e carinho.
Agradecemos o auxílio nesta conquista, dedicando-lhes nossa vitória.*

*“A maior recompensa do nosso trabalho não é o
que nos pagam por ele, mas aquilo
em que ele nos transforma” (Jonh Ruskin).*

AGRADECIMENTOS

Agradeço

À Deus pela dádiva da vida e pela oportunidade de concluir este curso de nível superior,

Aos nossos pais pela permanente presença e incentivo e por nos ensinar a enfrentar os obstáculos da vida e os caminhos a serem seguidos,

À nossa irmã pelo apoio e dedicação dispensados a nós,

Às nossas namoradas pela permanente presença e incentivo,

Às Professoras Suely e Elba, orientadoras desta monografia, por sua dedicação, doação e comprometimento com a qualidade na formação do profissional de engenharia,

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, nossos sinceros agradecimentos.

Resumo do Projeto de Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de graduação em Engenharia Química.

ESTUDO REOLÓGICO DA MISTURA REACIONAL DA CONVERSÃO ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DE CANA: SELEÇÃO DO TIPO DE AGITADOR

Leonardo Tupi Caldas Pereira
Lucas Tupi Caldas Pereira

Novembro, 2008

Orientadores: Prof^a. Suely Pereira Freitas, D.Sc
Prof^a. Elba Pinto da Silva Bon, Ph.D

Os resíduos ligninocelulósicos são uma fonte promissora de energia renovável para países como o Brasil, cuja economia se sustenta na produção e comercialização de produtos agrícolas. Um desses produtos é o etanol de segunda geração, que também representa uma solução para o acúmulo de resíduos da agroindústria. Muitos esforços para o desenvolvimento dessa tecnologia usam a rota enzimática, devido às suas vantagens. Com objetivo de avançar nesse sentido, o presente trabalho tem por finalidade desenvolver um reator para a hidrólise enzimática do bagaço de cana. As enzimas celulases de fungos filamentosos utilizadas neste estudo foram produzidas *in situ*. Utilizou-se uma carga de enzima de 10 Unidades de Papel de Filtro por grama de biomassa que foi pré-tratada à pressão média de 15 atm, que eleva a temperatura a 200°C, por um período de 7 minutos. Como parâmetros de processo foram estudados: (i) a conversão da celulose da biomassa da cana em glicose e açúcares redutores totais; (ii) o comportamento reológico da mistura reacional do hidrolisado, em função do grau de conversão; (iii) a potência mínima necessária do misturador em escala piloto e industrial. O acompanhamento da concentração da glicose, dos açúcares redutores e da viscosidade da mistura reacional da hidrólise do bagaço de cana, foi realizado por um período de 36 horas. A conversão da celulose da biomassa, após o tempo de hidrólise estabelecido foi de 45%. O comportamento reológico da mistura reacional foi determinado e apresenta características de fluido pseudoplástico. A estimativa da potência de mistura para um tanque de 100 litros úteis foi calculada utilizando correlações empíricas de *Nagata (1975)*, onde foram simulados agitadores do tipo turbina Rushton e pá inclinada com ângulo de 45 graus, sendo este último o que consumiu menor potência para a mistura da reação enzimática, correspondendo a um consumo de energia 10 vezes inferior em relação a turbina Rushton. A determinação do tipo de agitador é somente uma etapa do desenvolvimento do processo de hidrólise enzimática do bagaço de cana, sendo pertinente o estudo de etapas anteriores como o pré-tratamento e etapas posteriores, como operações de separação.

PALAVRAS-CHAVES: Bagaço de cana, Reator de hidrólise, Reologia, Agitadores, Enzimas Celulolíticas.

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVO.....	2
2.1	Objetivo geral.....	2
2.2	Objetivos específicos	2
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	2
3.1	Cinética Enzimática	2
3.2	Enzimas Celulolíticas.....	3
3.2.1	Endoglucanase (EC 3.2.1.4)	4
3.2.2	Exoglucanases (EC 3.2.1.91).....	5
3.2.3	β -glucosidasas (EC 3.2.1.21).....	5
3.3	Estrutura Lignocelulósica	5
3.3.1	Celulose	6
3.3.2	Hemicelulose	7
3.3.3	Lignina.....	7
3.4	O Bagaço da Cana-de-Açúcar.....	8
3.4.1	Produção	8
3.4.2	Pré – Tratamento	9
3.4.3	Tratamento Térmico a Vapor	10
3.5	Rotas Tecnológicas	10
3.5.1	Hidrólise da biomassa com ácido concentrado.....	10
3.5.2	Hidrólise da biomassa com ácido diluído.....	11
3.5.3	Hidrólise enzimática da biomassa	12
3.6	Parâmetros do processo	12
3.6.1	Viscosidade.....	12
3.6.2	Fluidos Newtonianos	13
3.6.3	Fluidos não-Newtonianos.....	13
3.6.4	Agitação.....	14
3.6.5	Funções e tipos dos agitadores	14
3.6.6	Vórtices.....	17
3.7	Cálculo da Potência.....	19
3.7.1	Similaridade.....	19
3.7.2	Números Adimensionais	20

3.7.3	Gráficos e equações que correlacionam o Número de Reynolds com o Número de Potência.	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1	Microrganismos, propagação e manutenção.....	23
4.2	Substrato	24
4.2.1	Caracterização da Biomassa da cana Pré-Tratada	24
4.3	Fermentações submersas para a produção de celulases.....	25
4.3.1	<i>Trichoderma reesei</i> RUT C30	25
4.3.2	<i>Aspergillus awamori</i>	26
4.4	Ensaio enzimáticos	27
4.4.1	Atividade endoglucanase (CMCase).....	28
4.4.2	Atividade exoglucanase (FPase).....	28
4.4.3	Atividade β -glucosidase	28
4.5	Hidrólise do bagaço de cana de açúcar	29
4.6	Dosagem da concentração de glicose	30
4.7	Dosagem da concentração de açúcares redutores totais por espectroscopia.....	31
4.8	Reologia do hidrolisado	31
4.9	Procedimento para ampliação de escala	32
4.10	Procedimento para determinação da densidade média do bagaço.	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	34
5.1	Cinética de conversão	34
5.2	Dados reológicos.....	35
5.2.1	Modelagem matemática para a estimativa da viscosidade aparente do hidrolisado em função do grau de conversão.	37
5.2.2	Viscosidade aparente em função da taxa de conversão.	46
5.3	Determinação da densidade do bagaço de cana e da mistura reacional.....	47
5.4	Determinação do Número de Reynolds da mistura	48
5.5	Estimativa da Potência mínima para o reator de mistura.....	49
5.5.1	Agitador do tipo Turbina Rushton.....	49
5.5.2	Agitador do tipo Pá – pás inclinadas	51
5.6	Comparação dos agitadores do tipo turbina Rushton e Pá (pás inclinadas)	54
6	CONCLUSÕES.....	55
7	REFERÊNCIAS	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1- Mecanismo enzimático da hidrólise da celulose pelo complexo celulolítico em sistema. endoglucanase (endos), celobiohidrolase i (exosr), celobiohidrolase ii (exonr) e β -glucosidase (β -gase). Os círculos brancos representam os terminais redutores e os círculos pretos representam os terminais não-redutores. Fonte: Extraído de Béguin & Aubert, 1994.	4
Figura 3.2 - Representação da organização entre lignina, hemicelulose e celulose.	5
Figura 3.3 - Representação da cadeia linear da celulose, formada por várias cadeias consecutivas de celobiose (TÍMAR-BALASK & EASTOP, 1998).	6
Figura 3.4 – Arranjo de fibrilas, microfibrilas e celulose na parede celular vegetal.	6
Figura 3.5 – Evolução da produção brasileira de bagaço de cana.	9
Figura 3.6 – Diagrama de blocos simplificado do tratamento térmico a vapor.	10
Figura 3.7 – Esquema simplificado do processo de hidrólise da biomassa com ácido concentrado.	11
Figura 3.8 – Esquema simplificado do processo de hidrólise com ácido diluído.	11
Figura 3.9 – Esquema do processo de hidrólise enzimática.	12
Figura 3.10 - Classificação geral do comportamento reológico dos fluidos. (FOX & MCDONALD, 2001).	14
Figura 3.11 – Agitadores do Tipo Pá: (a) Pás Retas; (b) Pás Inclínadas.	15
Figura 3.12 – Agitador do Tipo Turbina Rushton.	16
Figura 3.13 – Agitador do Tipo Âncora.	16
Figura 3.14 – escoamento típico observado com um agitador tipo turbina de escoamento radial em um vaso sem chicanas (McCABE <i>et. al.</i> , 2001).	17
Figura 3.15 – escoamento padrão com o agitador fora do centro (McCABE <i>et. al.</i> , 2001).	17
Figura 3.16 – Tanque com agitador horizontal (McCABE <i>et. al.</i> , 2001).	18
Figura 3.17 – escoamento padrão em um tanque com chicanas com um agitador localizado no centro (McCABE <i>et. al.</i> , 2001)	18
Figura 3.18 – tanque com chicanas e tubos: (A) turbina, (B) propulsor. (McCABE <i>et. al.</i> , 2001).	18
Figura 3.19 – Número de Potência em função do Número de Reynolds para agitadores do tipo “Turbina Rushton” de seis pás retas para tanques sem chicanas. Fonte: (SILVA, 2002).	21
Figura 3.20 – Número de Potência em função do Número de Reynolds para agitadores do tipo Paddle, pás inclinadas (45°) para tanques sem chicanas. Fonte: (SILVA, 2002)	22
Figura 4.1 – (a) <i>Aspergillus awamori</i> ; (b) <i>Trichoderma reesei</i> RUT C30	23
Figura 4.2– Bagaço de cana tratado com tratamento térmico a vapor e lavado (a) não moído e (b) moído.	24
Figura 4.3 - Curva padrão da concentração de glicose versus absorbância (540 nm) para o método DNS.	27
Figura 4.4 – Erlenmeyer contendo 100g/l de bagaço de cana e 10 FPU/g de bagaço e BGU (β -glucosidase) na relação 1:1.	29
Figura 4.5 – Bioanalisador utilizado na dosagem de glicose.	30

Figura 4.6– Reômetro utilizado para analisar as amostras do hidrolisado.	31
Figura 4.7– Reator utilizado para hidrólise enzimática do bagaço de cana.	32
Figura 4.8 – Picnômetro usado para determinação da densidade do bagaço.	33
Figura 5.1 – Curva da cinética de conversão do bagaço de cana de açúcar em glicose via ação enzimática.	35
Figura 5.2 – Evolução do perfil reológico durante a hidrólise enzimática do bagaço de cana.	36
Figura 5.3 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (100 s-1).	38
Figura 5.4 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (112 s-1).	39
Figura 5.5 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (126 s-1).	40
Figura 5.6 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (141 s-1).	41
Figura 5.7 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (158 s-1).	42
Figura 5.8 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (178 s-1).	43
Figura 5.9 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (200 s-1).	44
Figura 5.10 – Viscosidade aparente para diferentes rotações do misturador versus o tempo de hidrólise enzimática do bagaço de cana.	45
Figura 5.11 – Comparação dos dados de viscosidade gerados pelos modelos matemáticos versus conversão de celulose em glicose.	46

ÍNDICE DA TABELA

Tabela 4.1 - Composição dos meios de cultivos para fermentação submersa do <i>Trichoderma reesei</i> RUT C30 (MANDELS, 1969).....	25
Tabela 4.2 - Solução de elementos traço (MANDELS, 1969).....	25
Tabela 4.3 - Composição dos meios de cultivos para fermentação submersa do <i>Aspergillus awamori</i> (BRECCIA, 1969).....	26
Tabela 4.4 - Solução de elementos traço (BRECCIA, 1969).....	26
Tabela 4.5 – Características geométricas do agitador.	32
Tabela 5.1– Atividades dos sobrenadantes das fermentações.	34
Tabela 5.2 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (100 s-1).....	38
Tabela 5.3 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (112 s-1).....	39
Tabela 5.4 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (126 s-1).....	40
Tabela 5.5 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (141 s-1).....	41
Tabela 5.6 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (158 s-1).....	42
Tabela 5.7 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (178 s-1).....	43
Tabela 5.8 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (200 s-1).....	44
Tabela 5.9 – Densidade do bagaço de cana e da mistura reacional.....	47
Tabela 5.10 – Número de Reynolds para as diferentes rotações selecionadas.....	48
Tabela 5.11 – Condições operacionais para agitadores do tipo turbinas Rushton.	49
Tabela 5.12 – Condições operacionais para agitadores do tipo turbinas Rushton.	49
Tabela 5.13 – Condições operacionais para agitadores do tipo turbinas Rushton.	50
Tabela 5.14 – Potência de mistura calculada para diferentes rotações do misturador.	50
Tabela 5.15 – Condições operacionais para agitadores do tipo pá inclinadas.....	51
Tabela 5.16 – Condições operacionais para agitadores do tipo pá inclinadas.....	52
Tabela 5.17 – Condições operacionais para agitadores do tipo pá inclinadas.....	52
Tabela 5.18 – Potência de mistura calculada para as diferentes rotações.	53
Tabela 5.19 – Comparação entre os dois tipos de agitadores estudados.	54

NOMENCLATURA

LETRAS LATINAS

E	Concentração de Enzima	M/L^3
S	Concentração de Substrato	M/L^3
ES	Concentração do Complexo Enzima Substrato	M/L^3
K_{ES}	Constante de Equilíbrio Enzima-Substrato	M/L^3
K_p	Constante Cinética do Produto	M/L^3
K_M	Constante de Meia Saturação	M/L^3
V	Velocidade de Reação	$M/L^3.t$
V_{max}	Velocidade Máxima de Reação	$M/L^3.t$
du/dy	Taxa de Deformação	t^{-1}
N	Rotação (r.p.m)	t^{-1}
D	Diâmetro do Agitador	L
H	Altura Útil	L
T	Diâmetro do Tanque	L
w	Espessura da Pá	L
C	Distância entre o Agitador e o Fundo do Tanque	L
P	Potência	$M.L^2/t^3$
d_s	Densidade Relativa das Partículas de Bagaço	M/L^3
m_{pV}	Massa do picnômetro Vazio	M
m_{pB}	Massa do picnômetro + bagaço	M
m_{pA}	Massa do picnômetro + água	M
m_{pBA}	Massa do picnômetro + bagaço + água	M
g	Constante Gravitacional	L/t^2
f	Fator de Calibração	$\mu\text{mol}/\text{Abs}$
V_E	Volume de Enzima	L^3

V_T	Volume Total de Reação	L^3
t	Tempo de Reação	t
%C	Porcentagem de conversão celulose em glicose	%
G	Concentração de glicose	M/L^3
f_{CG}	Relação celulose/glicose	M/M
f_{Cel}	Relação celulose/biomassa	M/M

LETRAS GREGAS

ρ	Densidade da Água	M/L^3
ρ_s	Densidade do Bagaço	M/L^3
ρ_m	Densidade da Mistura	M/L^3
c_s	Concentração de Bagaço no Reator	M/L^3
τ	Tensão de Cisalhamento	M/L^2
τ_0	Tensão de Cisalhamento Inicial	M/L^2
μ	Viscosidade	$M.t/L^2$
η	Viscosidade Aparente	Mt/L^2
ρ	Densidade do Fluido	M/L^3
Θ	Ângulo da Pá inclinada	[°]

GRUPOS ADIMENSIONAIS

A	Constante da Correlação Empírica de <i>Nagata</i>
B	Constante da Correlação Empírica de <i>Nagata</i>
K	Índice de Consistência
np	Números de Pás
n	Índice de Comportamento
N_{Re}	Número de Reynold
N_p	Número de Potência
p	Constante da Correlação Empírica de <i>Nagata</i>
Dil	Diluição da Amostra
ΔAbs	Varição de Absorvância

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a comunidade científica mundial tem procurado soluções tecnológicas para minimizar os impactos ambientais provocados pelo uso continuado e intensivo dos derivados do petróleo para geração de energia. Os países favoráveis a esta questão estão adotando programas de governo para estimular o aperfeiçoamento e o uso de fontes de energia renováveis. Neste contexto, o etanol de segunda geração é uma alternativa consistente para superar a crise mundial provocada pela elevação nos preços do petróleo.

Os resíduos lignocelulósicos representam uma fonte promissora para países como o Brasil cuja economia se sustenta na produção e comercialização de produtos agrícolas. A conversão da biomassa em energia aparece também como uma solução para reduzir os impactos causados pelo descarte de matéria orgânica gerada no processamento de produtos agrícolas (BON *et.al.*, 2008).

O Brasil já se destaca na produção de etanol de cana de açúcar e, mais recentemente na produção de biodiesel, ambos classificados como biocombustíveis por serem derivados da biomassa. De acordo com a revista Valor - Edição Especial (2008), os biocombustíveis correspondem a 16% de todo o consumo de energia no país, superado apenas pelos derivados do petróleo. Isto é um fato histórico que demonstra o grande potencial dos biocombustíveis.

Existem três rotas tecnológicas que empregam materiais lignocelulósicos para sua conversão em açúcares fermentáveis, são elas: hidrólise com ácido concentrado, hidrólise com ácido diluído e finalmente hidrólise enzimática. Esta é considerada mais vantajosa em diversos aspectos (Chang, Chou & Tsao, 1981, Wyman, 1994) tecnológicos: temperaturas brandas de operação, pressão atmosférica, reação seletiva - o que produz baixos níveis de subprodutos ou contaminantes - e facilidade de controle do processo.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Estudo do comportamento reológico da hidrólise enzimática do bagaço de cana para estimativa do tipo de agitador para um reator em escala de 100 L.

2.2 Objetivos específicos

- Acompanhar a conversão da celulose presente na biomassa da cana o substrato em glicose e açúcares redutores totais;
- Avaliar o comportamento reológico do hidrolisado, em função do grau de conversão;
- Determinação da potência mínima necessária do misturador em escala industrial.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Cinética Enzimática

A cinética enzimática estuda a velocidade das reações químicas catalisadas por enzimas. A velocidade de uma reação enzimática é influenciada por diferentes parâmetros: concentração de substrato, concentração das enzimas, temperatura, pH e concentração de ativadores e inibidores (FOGLER, 2002).

De acordo com Mariotto (2006), o conhecimento da cinética enzimática permite correlacionar as velocidades das transformações aos principais fatores que as afetam, estabelecer modelos para otimização e controle de processos e, como consequência, projetar reatores mais adequados.

Em 1903, Henri propôs uma rota na qual a enzima liga-se a uma molécula de seu substrato para formar o complexo enzima-substrato (ES), sendo este um passo obrigatório no processo catalítico (ibid). Partindo do modelo de Henri, Michaelis – Menten em 1913 propuseram um novo mecanismo de reação no qual a enzima inicialmente combina-se reversivelmente com o substrato para formar o complexo ES (Equação 3.1), sendo este passo relativamente rápido (LEHNINGER, 2002).



Neste modelo, os autores assumiram que a velocidade de decomposição do complexo ES é muito lenta, sendo a velocidade de reação dada por:

$$V = \frac{K_p * [E] * [S]}{K_m + [S]} \quad [3.2]$$

onde,

$$K_m = \frac{K_{ES} + k_p}{K_{ES}} \quad [3.3]$$

[E] = concentração de enzima, [S] = concentração de substrato. Se $V_{max} = K_p \cdot [E]$ então:

$$V = V_{max} * \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad [3.4]$$

Desta equação pode-se calcular o valor de V_{max} (velocidade máxima quando a enzima está saturada) e o K_M (constante de meia saturação). Este parâmetro pode ser interpretado como uma constante aparente de dissociação de todas as espécies ligadas à enzima (LEHNINGER, 2002).

3.2 Enzimas Celulolíticas

As enzimas celulolíticas, também conhecidas como celulases, hidrolisam a ligação glicosídica entre dois ou mais carboidratos ou entre um carboidrato e uma porção não carboidrato (WULFF, 2002).

As celulases, dependendo do seu sítio de ação, são classificadas em três grupos: exoglucanases/celobiohidrolases (1,4-β-D-glucano-celobiohidrolase, EC 3.2.1.91), endoglucanases (1,4-β-D-glucano-4-glucanoidrolase, EC 3.3.1.4), e β-glucosidases (EC 3.2.1.21) (GHOSH & GHOSH, 1993 *apud* LYND *et al.* 2002).

Individualmente, uma única enzima do complexo celulolítico (Figura 3.1) é incapaz de hidrolisar a celulose de maneira eficiente, sendo necessária a ação sinérgica do complexo celulolítico (BÉGUIN & AUBERT, 1994).

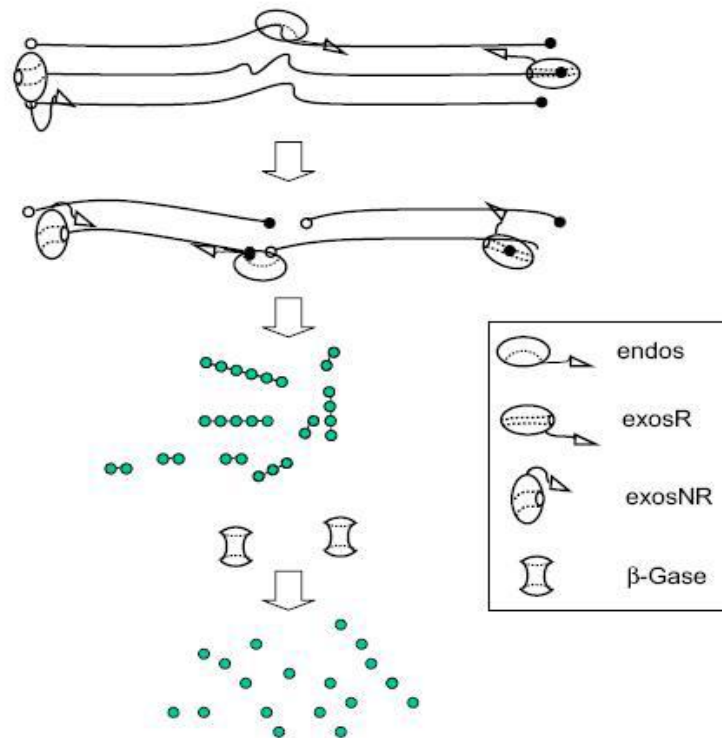


Figura 3.1- Mecanismo enzimático da hidrólise da celulose pelo complexo celulolítico em sistema. endoglucanase (endos), celobiohidrolase i (exosr), celobiohidrolase ii (exonr) e β -glucosidase (β -gase). Os círculos brancos representam os terminais redutores e os círculos pretos representam os terminais não-redutores. Fonte: Extraído de Béguin & Aubert, 1994.

A classificação das hidrolases O-glicosídicas (EC 3.2.1.-) de acordo com a nomenclatura enzimática IUB- MB é feita com base na sua especificidade ao substrato e ocasionalmente no seu mecanismo molecular. De acordo com essa nomenclatura, o algarismo 3 refere-se às hidrolases; 3.2 glucosilases e 3.2.1 glucosidases, isto é, enzimas que hidrolisam compostos o-glicosil ou s-glicosil (WULFF, 2002).

3.2.1 Endoglucanase (EC 3.2.1.4)

São enzimas que catalisam a hidrólise interna de ligações β -1,4-D-glucosídicas da das regiões amorfas da cadeia de celulose. Podem hidrolisar também ligações β -1,4 em D-glucanas que contenham ligações β -1,3. As endoglucanases são também conhecidas como celulases, endo β -1,4 glucanases e carboximetil celulales (WULFF, 2002). Sua atividade é geralmente medida através de um derivado de celulose com alto grau de polimerização, como a carboximetilcelulose (CMC). (IRWIN *et al.*, 1993).

3.2.2 Exoglucanases (EC 3.2.1.91)

As exoglucanases, também chamadas de celobiohidrolases (CBH) ou 1,4- β -D-glucan-celobiohidrolase, catalisam a hidrólise de ligações β -1,4-D-glucosídicas na celulose liberando unidades de celobiose a partir dos terminais não redutores e redutores da cadeia de celulose microcristalina (GHOSH & GHOSH, 1993).

3.2.3 β -glucosidases (EC 3.2.1.21)

As β -D-glucosidases hidrolisam a molécula de celobiose, gerando duas moléculas de glicose, podendo atuar também em oligossacarídeos com até seis unidades de glicose (β -D-galactosídeos, α -L-arabinosídeos, β -D-xilosídeos e β -D-fucosídeos) a partir da extremidade não-redutora (ITO *et al.*, 2007). Atualmente não sendo considerada como celulase legítima, por não atuar diretamente na cadeia polimérica da celulose (ZANDODONÁ, 2001).

3.3 Estrutura Lignocelulósica

A estrutura lignocelulósica refere-se à parte do vegetal que forma sua parede celular, composta por estruturas fibrosas, constituídas basicamente por polissacarídeos (40 a 60% de celulose e 20 a 40% de hemicelulose), associados a uma estrutura macromolecular contendo substâncias aromáticas, a lignina (15 a 25%). Esses materiais, em geral, possuem em sua composição cerca de 65 a 75% de polissacarídeos (em base seca), que contêm em suas unidades monoméricas valiosos glicídios (açúcares) (PEREIRA JR., 2006).

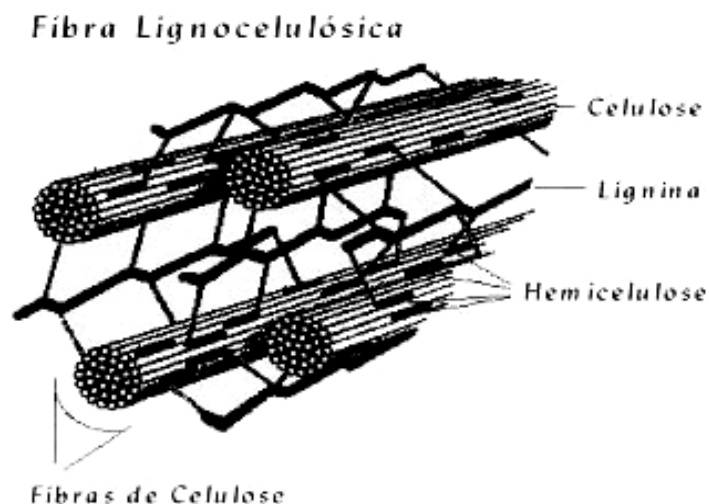


Figura 3.2 - Representação da organização entre lignina, hemicelulose e celulose.

3.3.1 Celulose

A celulose é constituída de um polímero linear (Figura 3.3) formado por resíduos de glicose unidos por ligações β -1,4 (grau de polimerização entre 10.000-15.000) Cada resíduo de glicose apresenta uma rotação de 180° em relação aos resíduos vizinhos, sendo a celobiose a unidade estrutural básica repetitiva da celulose (TÍMAR-BALASK & EASTOP, 1998).

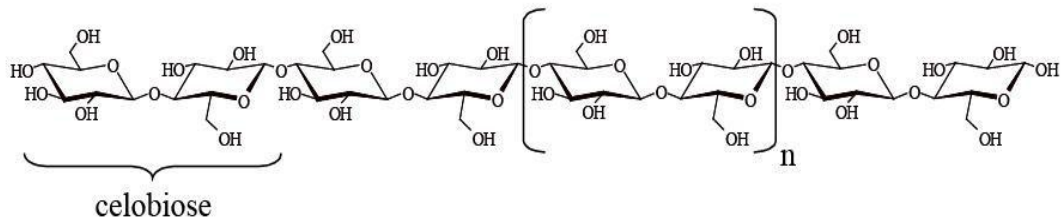


Figura 3.3 - Representação da cadeia linear da celulose, formada por várias cadeias consecutivas de celobiose (TÍMAR-BALASK & EASTOP, 1998).

Nas celulosas naturais, as cadeias se alinham de modo a formar fibrilas complexamente organizadas, a estrutura não é uniforme, apresentando regiões altamente cristalinas, ou seja, ordenadas, e outras regiões amorfas, ou seja, menos organizadas (ATALLA, 1993). Essas fibrilas são estabilizadas entre si por pontes de hidrogênio entre cadeias, que individualmente são fracas, mas coletivamente resultam em uma força associativa considerável, conferindo certa resistência à fibra celulósica (BAYER & LAMED, 1992).

Existem também pontes de hidrogênio entre as cadeias adjacentes que reforçam a estabilidade estrutural da celulose. Desse modo, as microfibrilas se organizam em fibrilas maiores (Figura 3.4), que por sua vez são organizadas em lamelas (finas camadas), formando uma rede de várias camadas de parede celular do vegetal (COUGHLAN, 1992).

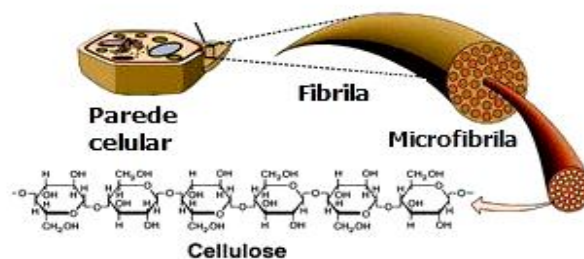


Figura 3.4 – Arranjo de fibrilas, microfibrilas e celulose na parede celular vegetal.

Os mais eficientes degradadores biológicos da celulose são os fungos filamentosos. Tipicamente, as endoglucanases e as celobiohidrolases hidrolisam a celulose cristalina em celobiose e a β -glicosidase degrada a celobiose em glucose (TEERI, 1997).

3.3.2 Hemicelulose

A hemicelulose, ao contrário da celulose, não contém regiões cristalinas, sendo um polímero menor com grau de polimerização entre 100-200. Trata-se de um grupo misto de polissacarídeos não celulósicos lineares e/ou ramificado que compreende dois grandes grupos: os pentosanos e os hexosanos (TAVARES *et. al.*, 2006).

Os pentosanos são constituídos de unidades de pentoses (D-xilose, L-arabinose) e os hexosanos são constituídos de unidades de hexoses (D-glucose, D-galactose, D-manose). Também apresentam pequenas quantidades de L-ramnose, L-fucose e ainda desoxi-hexoses e ácidos urónicos: ácido D-glucurónico, ácido 4-O-metil-D-glucurónico e ácido D-galacturônico (ibid).

Tal como a celulose, a hemicelulose é um importante elemento estrutural da parede celular, atuando como matriz de suporte para as microfibrilas da celulose (KIRK & FARRELL, 1987).

Os monossacarídeos ligam-se uns aos outros essencialmente por ligações glicosídicas β -(1 \rightarrow 4), mas também se podem encontrar ligações glicosídicas β -(1 \rightarrow 3), β -(1 \rightarrow 6), α -(1 \rightarrow 2), α -(1 \rightarrow 3) e α -(1 \rightarrow 6). As hemiceluloses e a lignina são ligadas covalentemente. Devido ao baixo grau de polimerização e à sua natureza amorfa, as hemiceluloses são degradadas mais facilmente do que a celulose. Apesar disso, ainda é necessário um sistema enzimático complexo para a sua degradação, devido à sua estrutura variável e ramificada (SJÖSTRÖM, 1981).

3.3.3 Lignina

É um heteropolímero complexo constituído por unidades de fenilpropano (C₉) que apresenta um elevado peso molecular (600-10000 kDa). Durante o tratamento químico, a sua remoção permite que as fibras de celulose e hemicelulose sejam separadas facilmente (KIRK & CULLEN, 1998). A lignina apresenta um carácter hidrofóbico que inibe a absorção de água e o inchamento das fibras (TAVARES *et. al.*, 2006).

A lignina é formada a partir dos álcoois p-cumarílico, coniferílico e sinapílico (KUAD *et al.*, 1997), os quais formam respectivamente as subunidades hidroxifenilo, guaiacilo e seringilo que compõem a lignina (BOUDET *et al.*, 1995). O álcool coniferílico é precursor das unidades guaiacilo e o álcool sinapílico origina as unidades seringilo e o álcool cumarílico dá origem às unidades p-hidroxifenilo (KIRK & FAREEL, 1987).

A lignina é o segundo maior componente celular do vegetal. Ela estabelece as ligações entre as fibras, conferindo firmeza e rigidez às mesmas. Ela é encontrada entre as células e a parede celular e é resistente ao ataque biológico, uma vez que não apresenta ligações que sejam hidrolizáveis. É um polímero de estrutura amorfa, aromática, altamente ramificada e insolúvel em água. Apresenta-se sob uma rede tridimensional com ligações cruzadas (SJÖSTRÖM, 1981).

3.4 O Bagaço da Cana-de-Açúcar

O desenvolvimento e o uso de fontes renováveis de energia são temas prioritários em todo o mundo. Com a escassez das reservas de petróleo e a iminência das mudanças climáticas, a agroenergia surge como uma importante alternativa ao futuro do planeta e à geração de renda ao trabalhador rural (MAPA, 2007).

A inclusão da cana-de-açúcar como principal alternativa para produção de biocombustíveis leva em consideração não apenas a obtenção do etanol para uso em veículos automotores, mas também a utilização do bagaço nas usinas. O bagaço é o resíduo sólido da produção de açúcar e álcool, destinado basicamente à geração de energia, nas formas térmica, mecânica e elétrica. Essa energia é capaz de suprir toda a demanda das unidades produtoras e ainda gerar excedentes exportáveis à rede elétrica (*ibid*).

3.4.1 Produção

O setor sucroalcooleiro gera aproximadamente 16 milhões de toneladas de bagaço de cana excedente e 76 milhões de toneladas de palha, cuja utilização permitiria duplicar a produção brasileira de etanol (CGEE, 2005).

Nos últimos quinze anos a evolução da produção de bagaço de cana no Brasil aumentou em aproximadamente 51%, no período de 1990 a 2005 (Figura 3.5).

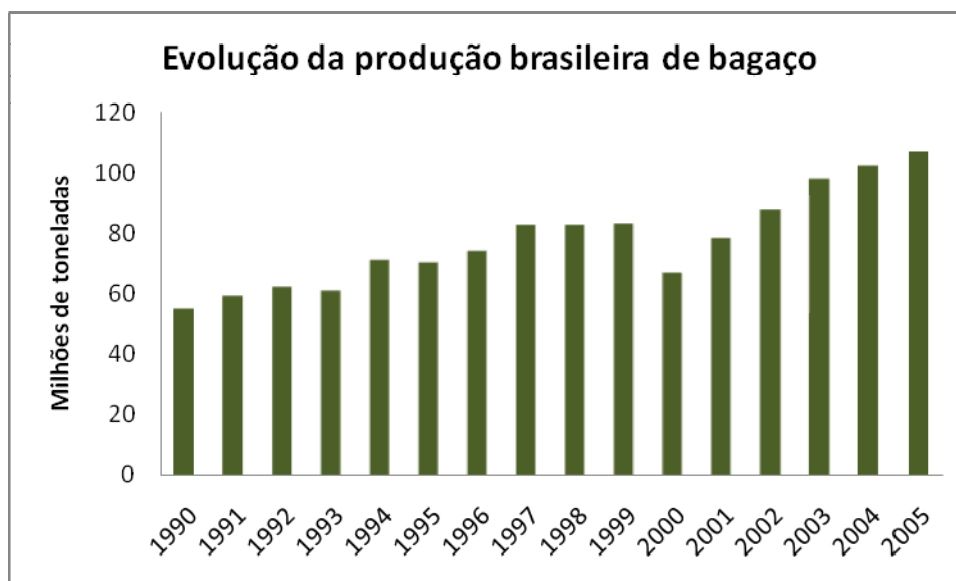


Figura 3.5 – Evolução da produção brasileira de bagaço de cana.

Fonte: Adaptado de MME/EPE, 2007 *apud* MAPA, 2007.

O desperdício de material celulósico corresponde a dois terços da área plantada da cana (o bagaço e a palha são hoje usados na geração de energia, queimados ou deixados no campo) e, atualmente, apenas um terço da biomassa contida na planta é aproveitada para produção de etanol ou açúcar (INOVAÇÃO UNICAMP, 2006d).

3.4.2 Pré – Tratamento

Os materiais lignocelulósicos apresentam um caráter altamente recalcitrante que pode ser atenuado pelo emprego de pré-tratamento.

Na literatura são encontrados pré-tratamentos térmicos, químicos, físicos, biológicos ou uma combinação desses, no entanto os métodos físicos e químicos combinados têm sido apontados como os mais eficientes. Em particular, o uso de vapor saturado ou de explosão a vapor vem sendo indicado como métodos promissores para implementação industrial. (Focher *et al.*, 1988; Wood and Saddler, 1988; Ghosh and Singh, 1993; Ramos and Saddler, 1994b; Ramos *et al.*, 2000).

3.4.3 Tratamento Térmico a Vapor

A técnica de tratamento térmico a vapor (Figura 3.6) utiliza vapor saturado em alta pressão promovendo uma modificação estrutural do material lignocelulósico. Esta técnica possibilita a extração de uma parte da fração hemicelulósica que em seguida pode ser recuperada no extrato aquoso gerando um resíduo celulósico fibroso (celulose e lignina) (Focher *et al.*, 1988; Ramos *et al.*, 1992a, 1992b, 2000).

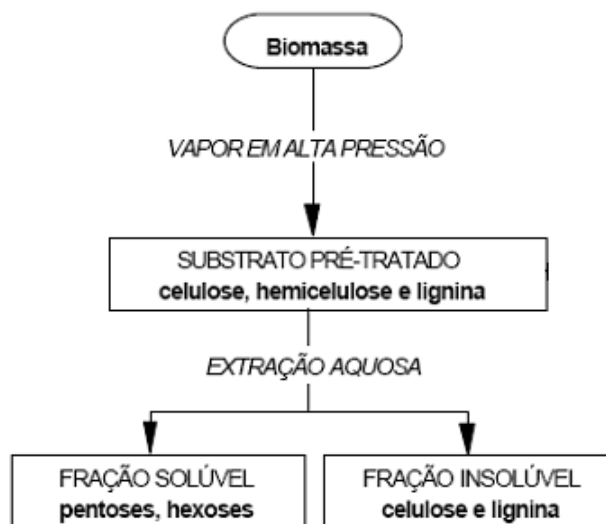


Figura 3.6 – Diagrama de blocos simplificado do tratamento térmico a vapor.

O efeito do tratamento térmico a vapor sobre a organização estrutural da celulose aumenta sua área superficial e, como conseqüência, sua susceptibilidade à hidrólise ácida e/ou enzimática (IMTHURM *et al.*, 2000). Este tratamento é comumente aplicado para produção de ração animal.

3.5 Rotas Tecnológicas

Como já mencionado existem três rotas para a conversão de resíduos lignocelulósicos para açúcares fermentáveis, elas serão descritas brevemente a seguir.

3.5.1 Hidrólise da biomassa com ácido concentrado

No tratamento com ácido concentrado (Figura 3.7), ocorre a quebra da hemicelulose e da celulose em uma única etapa pela ação de soluções aquosas de ácidos fortes a baixas temperaturas. Este processo requer maior controle e o uso de equipamentos robustos, o que aumenta muito o seu custo, conferindo assim uma desvantagem desta rota tecnológica. Outra desvantagem do tratamento ácido reside no fato de que a hidrólise da hemicelulose é mais

rápida do que da celulose. Neste caso, os açúcares oriundos da hemicelulose formam substâncias que inibem o processo fermentativo subsequente, tais como furfural e hidroximetil furfural (von Sivers & Zacchi, 1996).

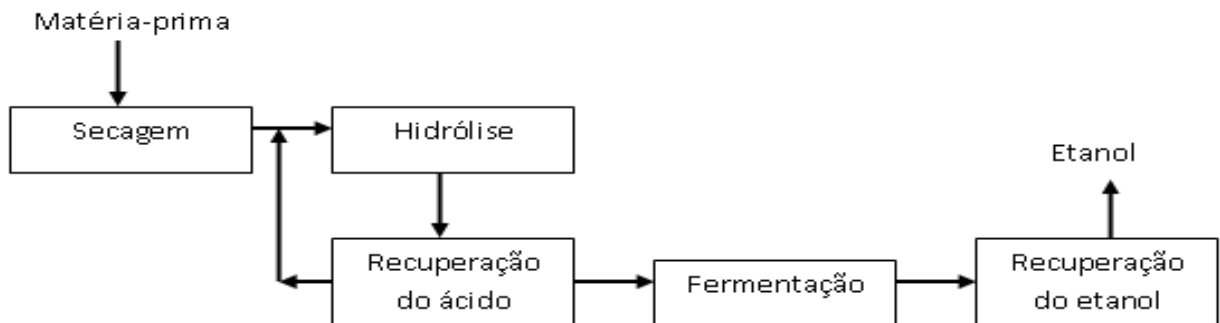


Figura 3.7 – Esquema simplificado do processo de hidrólise da biomassa com ácido concentrado.

3.5.2 Hidrólise da biomassa com ácido diluído

A hidrólise com ácido diluído (**Figura 3.8**) é realizada em duas etapas. Após a primeira etapa ocorre a remoção da hemicelulose, com isso podem ser feitas otimizações para a hidrólise da celulose. No entanto, na segunda etapa do processo a temperatura é elevada a 200°C, ocasionando a degradação de parte dos produtos e formação de inibidores ao processo fermentativo (Larsson et al. 1998).

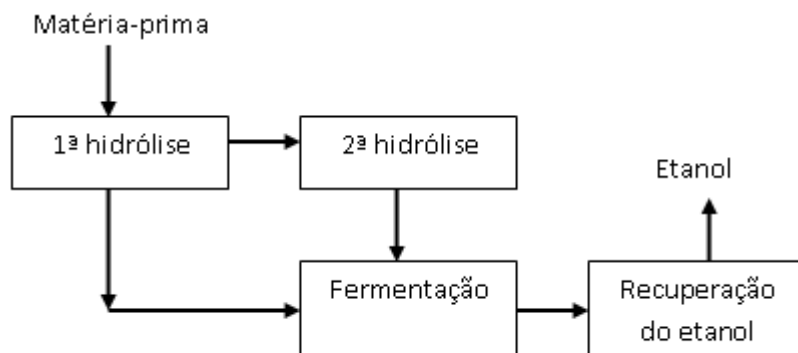


Figura 3.8 – Esquema simplificado do processo de hidrólise com ácido diluído.

3.5.3 Hidrólise enzimática da biomassa

No processo enzimático a biomassa sofre primeiramente uma operação de pré-tratamento para aumentar a acessibilidade das enzimas ao substrato. Nesta etapa ocorre a remoção da hemicelulose deixando a celulose suscetível à ação das enzimas celulolíticas. As condições da hidrólise enzimática são mais brandas que a da hidrólise ácida e mais seletiva, diminuindo assim, a formação de subprodutos indesejáveis. Porém para alcançar uma alta taxa de conversão da celulose há uma grande demanda da quantidade de celulase, o que eleva o custo do processo. Logo, a etapa de produção das enzimas celulolíticas é identificada com um gargalo da cadeia produtiva. Deste modo, a produção dessas enzimas de forma mais eficiente envolve o uso de fontes de carbono indutoras e de baixo custo, como resíduos do processamento da cana-de-açúcar, do milho e do trigo (Coughlan, 1992).

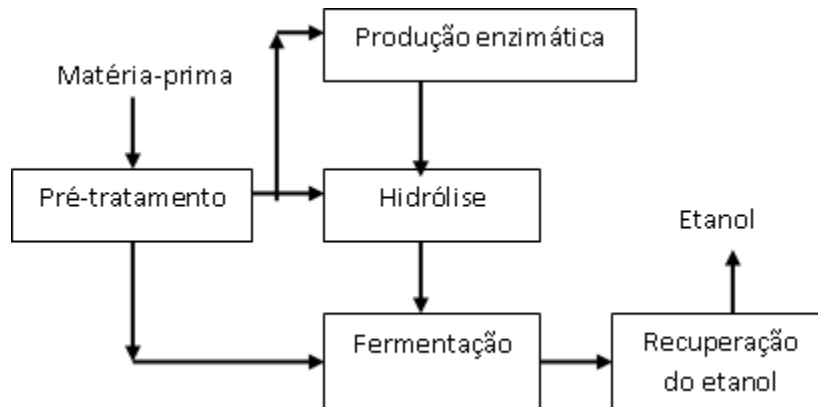


Figura 3.9 – Esquema do processo de hidrólise enzimática

3.6 Parâmetros do processo

3.6.1 Viscosidade

Fluido é uma substância que se deforma continuamente sob a ação de uma tensão de cisalhamento (FOX & MCDONALD, 2001). A viscosidade é a propriedade que descreve a capacidade que o fluido possui de resistir à deformação (du/dy). Dessa forma, o fluido pode ser classificado de acordo com o seu comportamento quando submetido a uma tensão de cisalhamento em Newtonianos e não-Newtonianos.

3.6.2 Fluidos Newtonianos

São fluidos em que a tensão de cisalhamento (τ) é diretamente proporcional à taxa de deformação (du/dy), onde a constante de proporcionalidade é a viscosidade (μ). A relação unidimensional é dada pela equação abaixo:

$$\tau = \mu * \left(\frac{du}{dy} \right) \quad [3.5]$$

Neste caso a viscosidade não depende da taxa de deformação aplicada.

3.6.3 Fluidos não-Newtonianos

Os fluidos em que a viscosidade depende da taxa de deformação são chamados de fluidos não-Newtonianos. A expressão que descreve esse comportamento é dada a seguir:

$$\tau = \eta \frac{du}{dy} \quad [3.6]$$

onde η - é a viscosidade aparente do fluido.

Em geral, o comportamento de fluidos não newtonianos é descrito pelo modelo de potência que pode apresentar (Herschel-Bulkley) ou não (Ostwald-de-Waele) um termo de tensão inicial como mostrado nas equações 3.7a e 3.7b, respectivamente:

$$\tau = \tau_o + K \left(\frac{du}{dy} \right)^n \quad [3.7a]$$

$$\tau = K \left(\frac{du}{dy} \right)^n \quad [3.7b]$$

O expoente, n , é o índice de comportamento do fluido e K , o índice de consistência. Fluidos em que a viscosidade aparente diminui com o aumento da taxa de deformação ($n < 1$) são chamados de pseudoplásticos. Se $n > 1$, a viscosidade aparente aumenta com a taxa de deformação crescente. Os fluidos que apresentam esse comportamento são denominados de dilatantes. A figura 3.10 representa a classificação geral dos fluidos que leva em conta o comportamento dos mesmos em função da sua taxa de deformação.

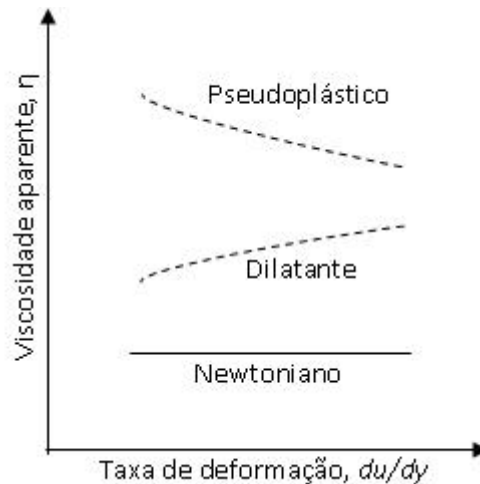


Figura 3.10 - Classificação geral do comportamento reológico dos fluidos. (FOX & MCDONALD, 2001)

3.6.4 Agitação

Operações de agitação e mistura são importantes em plantas químicas para homogeneizar meios formados por diferentes componentes, principalmente quando estão envolvidos reagentes e produtos em fases diferentes (sólido, líquido ou gás), líquidos imiscíveis, etc (ESPINOSA-SOLARES *et. al.*, 2002).

Usualmente a agitação refere-se ao movimento induzido em um fluido por meios mecânicos, enquanto a mistura está normalmente relacionada com duas ou mais fases, inicialmente separadas, que são aleatoriamente distribuídas uma através da outra (OLDSHUE, 1983).

3.6.5 Funções e tipos dos agitadores

As funções dos agitadores são: mistura de líquidos miscíveis; dispersão de líquidos imiscíveis; dispersão de um gás num líquido; suspensão ou dispersão de sólidos particulados num líquido para uniformizar, promover transferência de calor e/ou massa ou para iniciar e auxiliar uma reação química; redução das dimensões de aglomerados de partículas (PERRY, 2007).

Os agitadores são divididos em três classes: a) de fluxo axial cuja principal direção da descarga do fluido do agitador coincide com a direção do seu eixo, é geralmente utilizado nas aplicações de fluxo controlado, em suspensão de sólidos e na transferência de calor que requer alta eficiência de bombeamento; b) fluxo radial, cuja principal direção da descarga do fluido do impelidor coincide com a direção normal ao eixo de rotação, é mais utilizado para transferência de massa líquido-líquido e gás-líquido; e c) fluxo tangencial, cuja direção de descarga do líquido atua próximo e paralelo ao círculo de rotação do eixo do agitador, os quais são aplicados para agitar líquidos de altas viscosidades (Oldshue, 1983).

As pás do agitador podem assumir formas diferentes dependendo do tipo de processo. Os tipos mais comuns de agitadores utilizados na indústria química são: pás, turbinas e âncora.

Os agitadores do tipo pá podem apresentar duas formas diferentes, pás retas (Figura 3.11a) e pás inclinadas (Figura 3.11b). Este tipo de agitador é apropriado para reações em regime laminar e turbulento. Os agitadores de pás retas são os que melhor desenvolvem um fluxo radial, e por esse motivo são aplicados em misturas de líquidos miscíveis. Os agitadores de pás inclinadas promovem um fluxo axial e são principalmente utilizados nas operações de mistura envolvendo líquidos miscíveis ou na preparação de dissoluções de produtos sólidos.

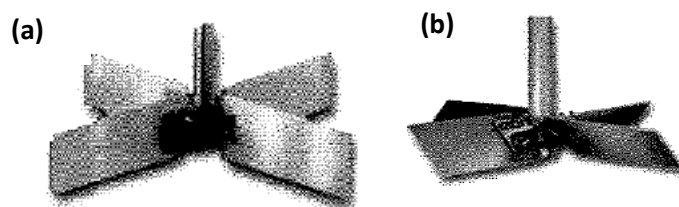


Figura 3.11 – Agitadores do Tipo Pá: (a) Pás Retas; (b) Pás Inclinadas

O agitador Turbina Rushton (Figura 3.12) é geralmente composto de 6 pás e promove um fluxo radial, o qual é desejado na transferência de massa entre uma fase gasosa e uma fase líquida. Estes agitadores são apropriados para mistura em escoamento turbulento com elevado consumo de potência.

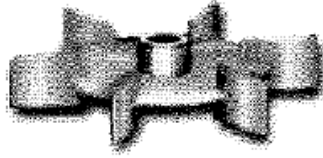


Figura 3.12 – Agitador do Tipo Turbina Rushton.

Agitadores do tipo âncora (Figura 3.13) são utilizados quando se deseja um baixo nível de turbulência na mistura de fluidos viscosos. Este agitador produz uma forte componente tangencial. Normalmente possuem 2 pás, sendo utilizado como raspador para minimizar a formação de depósito, mas é especialmente eficiente para processos com transferência simultânea de calor. Geralmente a velocidade típica de rotação é relativamente baixa, de 5 a 50 r.p.m (OLDSHUE, 1983).



Figura 3.13 – Agitador do Tipo Âncora.

3.6.6 Vórtices

Quando o agitador está disposto no centro, a componente tangencial da velocidade é prejudicial à mistura. O fluxo tangencial segue uma trajetória circular ao redor do eixo e cria vórtices no tanque de agitação (McCABE, 2001). A formação de vórtices reduz a eficiência da mistura gerando alguns problemas, tais como: estratificação permanente em vários níveis, impede o fluxo longitudinal de um nível a outro; promove o acúmulo de sólidos na parte inferior do agitador; e em altas velocidades o vórtice pode ser tão grande que o agitador fica descoberto, introduzindo ar (bolhas) no líquido (Figura 3.14).

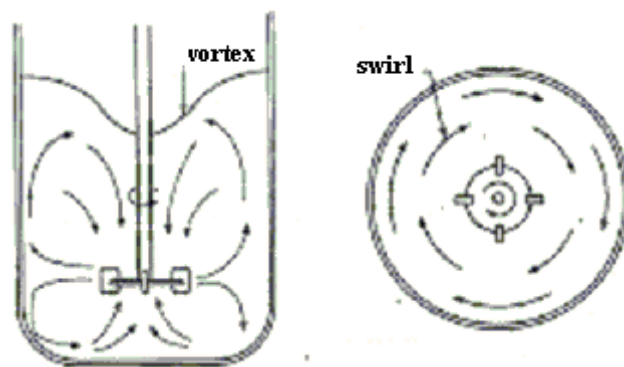


Figura 3.14 – Escoamento típico observado com um agitador tipo turbina de escoamento radial em um vaso sem chicanas (McCABE *et. al.*, 2001).

Para se evitar vórtices em tanques agitados recomenda-se que, em tanques pequenos, a posição do agitador seja descentralizada e/ou inclinada (Figura 3.15), enquanto para tanques maiores, o agitador pode ser colocado na lateral horizontal (Figura 3.16).

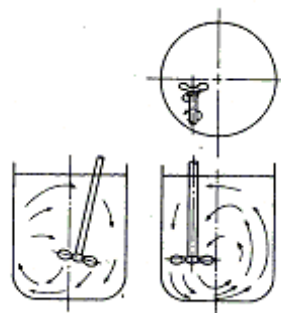


Figura 3.15 – Escoamento padrão com o agitador fora do centro (McCABE *et. al.*, 2001).

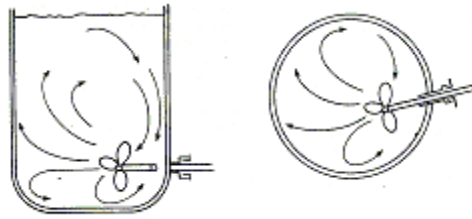


Figura 3.16 – Tanque com agitador horizontal (McCABE *et. al.*, 2001).

Recomenda-se também o uso de defletores (chicanas) que impede o escoamento rotacional, sem prejudicar o escoamento radial ou longitudinal. (Figura 3.17).

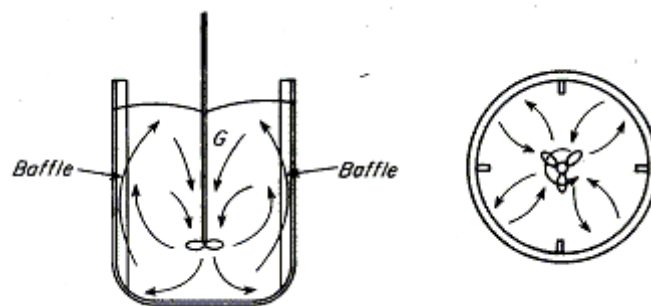


Figura 3.17 – Escoamento padrão em um tanque com chicanas com um agitador localizado no centro (McCABE *et. al.*, 2001)

Quando há a necessidade de melhorar o fluxo vertical e quando a direção e a velocidade do escoamento, para a sucção do propulsor, precisam ser controlados, recomenda-se o uso de tubos. (Figura 3.18).

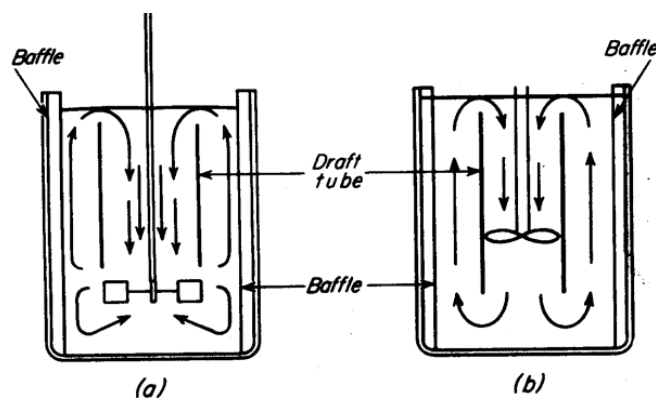


Figura 3.18 – tanque com chicanas e tubos: (A) turbina, (B) propulsor. (McCABE *et. al.*, 2001)

Estes equipamentos são úteis quando se deseja grande cisalhamento no agitador, como no caso da fabricação de emulsões com viscosidade elevada, ou quando partículas sólidas tendem a flutuar na superfície do líquido (McCABE *et. al.*, 2001).

3.7 Cálculo da Potência

Para estimar a energia mínima necessária para mover um agitador a uma dada velocidade utiliza-se correlações empíricas de potência em função das principais variáveis do sistema. A forma destas correlações é encontrada através de análise dimensional. Uma equação geral para potência do agitador pode ser definida como a função da geometria do agitador e do tanque, das propriedades do fluido, da rotação do agitador e da força gravitacional (UHL & GRAY, 1966).

$$f\left(\frac{\rho ND^2}{\mu}, \frac{N^2 D}{g}, \frac{P}{\rho N^3 D^5}, \frac{D}{T}, \frac{D}{H}, \frac{D}{C}, \frac{D}{p}, \frac{D}{w}, \frac{D}{l}, \frac{np_2}{np_1}\right) = 0 \quad [3.8]$$

onde:

ρ - densidade do fluido

N- rotação

μ - viscosidade do fluido

D, T, H, C, p, w, l, np - características geométricas do agitador e do tanque

3.7.1 Similaridade

Existem três tipos de similaridades presentes em um sistema agitado, são eles: geométrico, cinemático e dinâmico.

3.7.1.1 Similaridade Geométrica

Na equação 3.8, os sete últimos termos representam uma condição de similaridade geométrica, o qual requer que todas as dimensões correspondentes nos sistemas de diferentes tamanhos, de um modelo para um protótipo, tenham a mesma proporção. O diâmetro do agitador (D) é usado como a principal dimensão de referência (UHL & GRAY, 1966).

3.7.1.2 Similaridade Cinemática e Dinâmica

Existindo a similaridade geométrica, dois sistemas são dinamicamente similares quando a razão entre as forças que atuam no sistema de agitação são iguais. A similaridade cinemática requer que as velocidades dos pontos correspondentes estejam na mesma proporção (UHL & GRAY, 1966).

3.7.2 Números Adimensionais

Aplicando-se a análise dimensional obtém-se uma relação entre o número de potência e o número de Reynolds (UHL & GRAY, 1966).

3.7.2.1 Número de Reynolds

O Número de Reynolds (N_{Re}) mede a relação entre as forças inerciais e as forças viscosas (Equação 3.9). O escoamento no tanque é turbulento quando $N_{Re} > 10.000$. Para números de Reynolds aproximadamente entre 10 e 10.000, existe uma faixa de transição na qual o escoamento é turbulento no impulsor e laminar nas partes mais afastadas; quando $N_{Re} < 10$ o escoamento é apenas laminar (PERRY, 2007).

$$N_{Re} = \frac{D^2 N \rho}{\eta} \quad [3.9]$$

3.7.2.2 Número de potência

O número de potência (N_p) é o coeficiente de arraste nos sistemas com agitação (Equação 3.10). É definido do mesmo modo para fluidos newtonianos e não-Newtonianos.

$$N_p = \frac{g_c * P}{\rho * N^3 * D_a^5} \quad [3.10]$$

3.7.3 Gráficos e equações que correlacionam o Número de Reynolds com o Número de Potência.

A Figura 3.19 apresenta a curva do Número de Potência em função do Número de Reynolds para o agitador do tipo “Turbina Rushton” de seis pás retas para tanques sem chicanas.

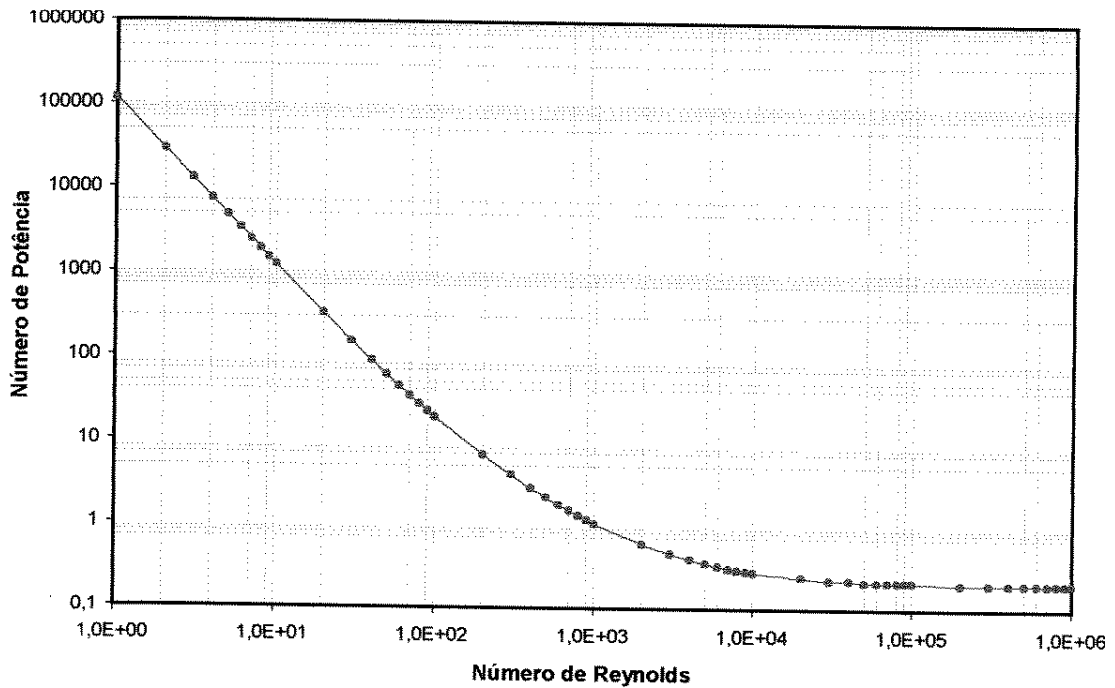


Figura 3.19 – Número de Potência em função do Número de Reynolds para agitadores do tipo “Turbina Rushton” de seis pás retas para tanques sem chicanas. Fonte: (SILVA, 2002)

A curva apresentada é descrita pela correlação empírica (Equação 3.11) apresentada por Nagata, (1975).

$$N_P = \frac{11,39 \cdot 10^4}{(N_{Re})^2} + \frac{717}{N_{Re}} + 0,2 \quad [3.11]$$

A Figura 3.20 apresenta a curva do Número de Potência em função do Número de Reynolds para o agitador do tipo Pá, considerando pás inclinadas (45°) e para tanques sem chicanas.

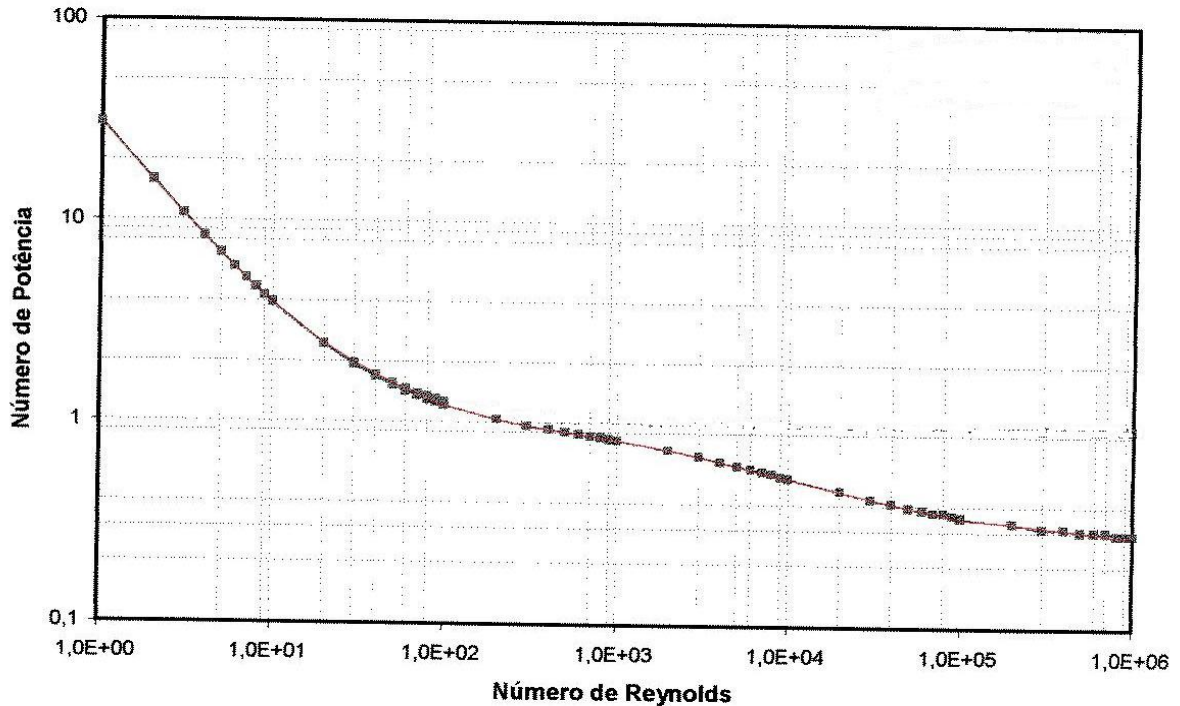


Figura 3.20 – Número de Potência em função do Número de Reynolds para agitadores do tipo Paddle, pás inclinadas (45°) para tanques sem chicanas. Fonte: (SILVA, 2002)

A curva apresentada é descrita pela correlação empírica apresentada pela equação 3.16 (Nagata,1975) para tanques sem chicanas.

$$N_P = \frac{A}{N_{Re}} + B \left(\frac{10^3 + 1,2N_{Re}^{0,66}}{10^3 + 3,2N_{Re}^{0,66}} \right)^2 \left(\frac{H}{T} \right)^{(0,35 + \frac{W}{T})} (\sin \theta)^{1,2} \quad [3.16]$$

onde:

$$A = 14 + \frac{W}{T} \left\{ 670 \left(\frac{D}{T} - 0,6 \right)^2 + 185 \right\} \quad [3.17]$$

$$B = 10^{[1,3 - 4 \left(\frac{W}{T} - 0,5 \right)^2 - 1,1 \left(\frac{D}{T} \right)]} \quad [3.18]$$

$$p = 1,1 + 4 \left(\frac{W}{T} \right) - 2,5 \left(\frac{D}{T} - 0,5 \right)^2 - 7 \left(\frac{W}{T} \right)^4 \quad [3.19]$$

As curvas de Número de Potência em função do Número de Reynolds, reportadas na literatura para diferentes tipos de agitadores, são válidas apenas para fluidos Newtonianos e para uma geometria do tanque específica. Entretanto, as curvas das Figuras 3.19 e 3.20 podem ser utilizadas para calcular o Número de Potência no caso de fluidos não-Newtonianos.

Para líquidos não Newtonianos, a taxa de deformação pode ser estimada pela equação 3.16 (PERRY, 2007).

$$\frac{\partial u}{\partial y} = 10 * N \quad [3.16]$$

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Microrganismos, propagação e manutenção

Os microrganismos utilizados para a hidrólise do bagaço tratado foram as cepas de *Trichoderma reesei* RUT C30 (Figura 4.1b) e de *Aspergillus awamori* (Figura 4.1a). A propagação dos microrganismos e a obtenção dos esporos foram conduzidas através de cultivo em placas de Petri contendo meio de cultura PDA (Potato Dextrose Agar). As suspensões de esporos foram obtidas através da adição de água esterilizada e raspagem das placas esporuladas que foram centrifugadas e preservadas em solução de glicerol a 20 % p/v a -20°C.

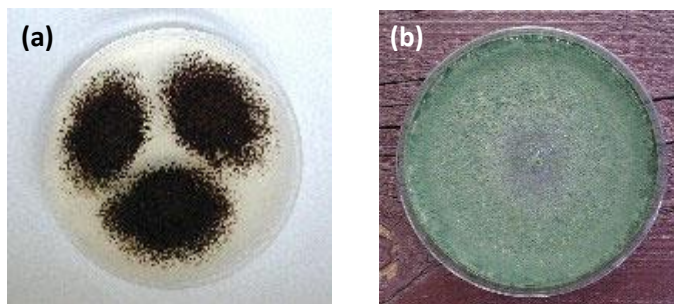


Figura 4.1 – (a) *Aspergillus awamori*; (b) *Trichoderma reesei* RUT C30

4.2 Substrato

O bagaço de cana pré-tratado utilizado neste trabalho foi gentilmente cedido pela Usina Vale do Rosário. Nesta usina o bagaço é submetido a tratamento térmico a vapor (pressão média de 15 atm, que eleva a temperatura a 200°C) durante um período de 7 minutos, visando o seu uso como ração animal. Em nosso laboratório este material foi lavado com água destilada e moído (tamanho médio de partículas de 1mm), utilizando um moinho de facas continuo acoplado com uma peneira de 1mm de diâmetro na saída da amostra (BRABENDER).

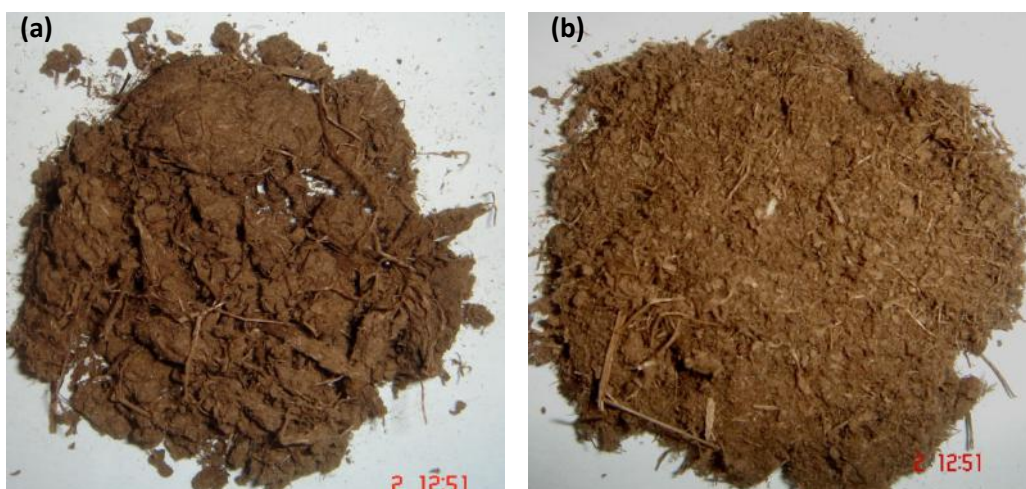


Figura 4.2– Bagaço de cana tratado com tratamento térmico a vapor e lavado (a) não moído e (b) moído.

4.2.1 Caracterização da Biomassa da cana Pré-Tratada

Para quantificar o teor de celulose no bagaço de cana foi realizado hidrólise ácida concentrada, com ácido sulfúrico a 72% durante 1 hora à temperatura de 30°C com agitação. Decorrido o tempo de reação, a mistura foi neutralizada com carbonato de cálcio até pH na faixa de 5 a 6. O sobrenadante foi analisado pelo método DNS para açúcares redutores totais e para glicose utilizou se o bioanalisador. O precipitado residual é composto por lignina insolúvel e cinzas.

4.3 Fermentações submersas para a produção de celulases.

4.3.1 *Trichoderma reesei* RUT C30

Para o preparo do pré-inóculo os meios foram inoculados com aproximadamente 1% (v/v) da suspensão de esporos de forma a apresentar $3,0 \times 10^6$ esporos/mL. O cultivo foi mantido a 30°C e 200 rpm por três dias (Tabela 4.1 e 4.2).

A produção da celulase foi realizada em Erlenmeyers, contendo 30% (v/v) de meio de fermentação (Tabela 4.1 e 4.2). Após esterilização, os meios de cultivo foram inoculados com pré-inóculo (10 % v/v). O pH dos meios foram mantidos em torno de 6, através da utilização de tampão fosfato 100 mM (pH 6). Os frascos foram incubados a 30°C e 200 rpm, por um período máximo de quatro dias.

Tabela 4.1 - Composição dos meios de cultivos para fermentação submersa do *Trichoderma reesei* RUT C30 (MANDELS, 1969).

Reagente	Meio de pré-inóculo	Meio de fermentação
Uréia - $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	0,3 g/L	0,3 g/L
Sulfato de amônio - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1,4 g/L	1,4 g/L
Fosfato de Potássio monobásico - KH_2PO_4	2,0 g/L	2,0 g/L
Cloreto de Cálcio - CaCl_2	0,3 g/L	0,3 g/L
Celulose (Avicel)	7,5 g/L	-
Extrato de Levedura	0,25 g/L	6,0 g/L
Milhocina	-	0,6% p/v
Fonte de Carbono	-	30 g/L

Tabela 4.2 - Solução de elementos traço (MANDELS, 1969)

Reagente	Concentração
Sulfato de Magnésio heptahidratado - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,3 g/L
Sulfato Ferroso heptahidratado - $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5 mg/L
Cloreto de Cobalto hexahidratado - $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	20 mg/L
Sulfato de Manganês tetra hidratado - $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,6 mg/L
Sulfato de Zinco heptahidratado - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,4 mg/L

4.3.2 *Aspergillus awamori*

Para o preparo do pré-inóculo os meios foram inoculados com aproximadamente 1% (v/v) da suspensão de esporos de forma a apresentar $3,0 \times 10^6$ esporos/mL. O cultivo foi mantido a 30°C e 200 rpm por dois dias (Tabelas 4.3 e 4.4).

A produção da celulase foi conduzida em Erlenmeyers, contendo 30% (em v/v) de meio de fermentação (Tabela 4.3 e 4.4). Após esterilização, os meios de cultivo foram inoculados com pré-inóculo (10 % v/v). O pH dos meios foram mantidos em torno 7. Os frascos foram incubados a 30°C e 200 rpm, por um período máximo de sete dias.

Tabela 4.3 - Composição dos meios de cultivos para fermentação submersa do *Aspergillus awamori* (BRECCIA, 1969).

Reagente	Meio de pré-inóculo	Meio de fermentação
Nitrato de Sódio - NaNO ₃	1,2g/L	1,2g/L
Fosfato de Potássio monobásico - KH ₂ PO ₄	3,0g/L	3,0g/L
Fosfato de Potássio dibásico - K ₂ HPO ₄	6,0g/L	6,0g/L
Cloreto de Cálcio - CaCl ₂	0,05g/L	0,05g/L
Extrato de Levedura	12,0g/L	12,0g/L
Fonte de Carbono	30,0g/L	30,0g/L

Tabela 4.4 - Solução de elementos traço (BRECCIA, 1969).

Reagente	Concentração
Sulfato de Magnésio heptahidratado - MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2g/L
Sulfato Ferroso heptahidratado - FeSO ₄ .7H ₂ O	5 mg/L
Cloreto de Cobalto hexahidratado - CoCl ₂ .6H ₂ O	20 mg/L
Sulfato de Manganês tetra hidratado - MnSO ₄ .4H ₂ O	1,6 mg/L
Sulfato de Zinco heptahidratado - ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,4 mg/L

4.4 Ensaios enzimáticos

Dos sobrenadantes das fermentações foram determinadas as atividades de endoglucanase (CMCase), exoglucanase (FPase) e β -glucosidases. Todos os ensaios foram realizados em duplicatas. Uma unidade de atividade enzimática (1UI – unidade internacional) corresponde a liberação de 1 μ mol de produto por minuto, em condições de velocidade inicial. A concentração das enzimas, na preparação enzimática, foi estimada pela equação (4.1):

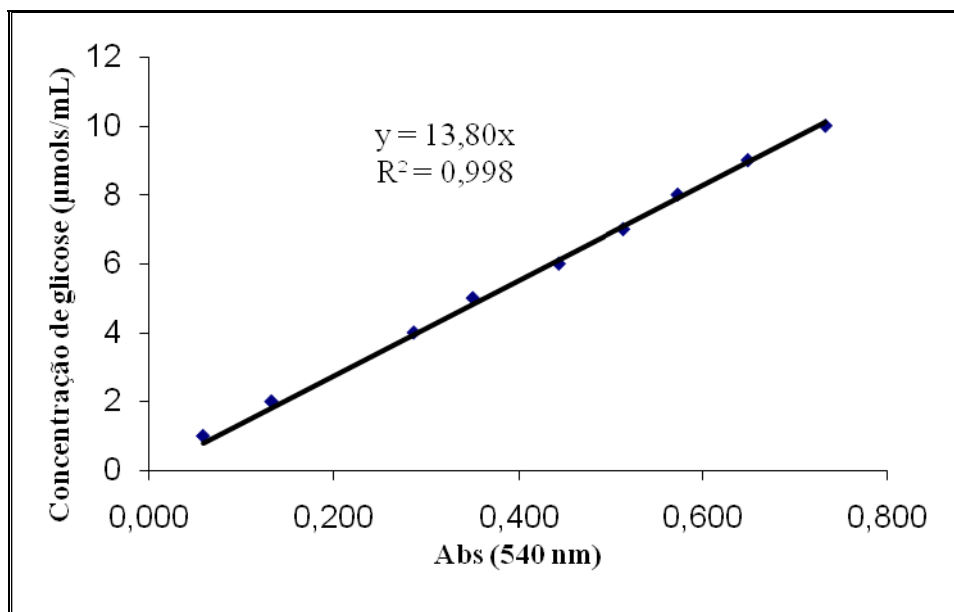


Figura 4.3 - Curva padrão da concentração de glicose versus absôvância (540 nm) para o método DNS.

$$\textit{Atividade Enzimática} = \frac{\textit{Dil.} \cdot \textit{f.} \cdot \Delta \textit{Abs.} \cdot \textit{V}_E}{\textit{t.} \cdot \textit{V}_T} \quad [4.1]$$

Onde:

Dil = diluição da amostra

f = fator de calibração

Δ Abs = variação de absorvância

V_E = volume de enzima

V_T = volume total de reação

t = tempo de reação

4.4.1 Atividade endoglucanase (CMCase)

A atividade CMCase foi determinada de acordo com a metodologia padrão descrita pela IUPAC (GHOSE, 1987). O método se baseia na dosagem da concentração de açúcares redutores liberados durante a degradação da carboximetilcelulose (CMC). O meio reacional foi formado por 0,5 mL de uma solução de CMC 4% (p/v) em tampão citrato de sódio 50mM pH 4,8 e 0,5 mL do sobrenadante das fermentações (diluído em tampão citrato de sódio 50 mM pH 4,8). A mistura reacional foi incubada a 50° C, durante 10 minutos, sob agitação. Após dez minutos, alíquotas de 0,5 mL foram retiradas para a determinação da concentração de açúcares redutores. A reação enzimática das alíquotas foi interrompida pela adição imediata das amostras em um tubo contendo 0,5 mL de DNS (ácido 3,5-dinitro salicílico). O reagente DNS, além de interromper a reação enzimática, possibilita a realização da dosagem da concentração de açúcares redutores produzidos pela ação enzimática (MILLER, 1959).

4.4.2 Atividade exoglucanase (FPase)

A atividade Fpase foi determinada de acordo com a metodologia padrão descrita pela IUPAC (GHOSE, 1987). O método se baseia na dosagem da concentração de açúcares redutores liberados durante a degradação de uma fita de papel de filtro. O meio reacional era formado por 0,5 mL do sobrenadante da fermentação (diluído em tampão citrato de sódio 50mM pH 4,8, quando necessário), 1,0 mL de tampão citrato de sódio 50 mM pH 4,8 e uma tira de papel de filtro Whatman nº 1 com dimensões 1,0cm X 6,0cm (aproximadamente 50 mg). A mistura reacional foi incubada a 50 ° C, durante 60 minutos, sob agitação. A reação foi interrompida pela adição de 0,5 mL da mistura reacional a um tubo contendo 0,5 mL de DNS. A determinação da concentração de açúcares redutores foi realizada em seguida.

4.4.3 Atividade β -glucosidase

A atividade da β -glucosidase foi realizada conforme metodologia padrão descrita pela IUPAC (GHOSE, 1987), com algumas modificações. Ao volume de 1,0 mL da preparação enzimática, com temperatura previamente equilibrada a 50 °C, foi adicionado igual volume da solução do substrato celobiose 15 mM. A reação foi incubada a 50 °C por 30 minutos e finalizada por incubação a 100 °C por 5 minutos para desnaturação da enzima. A glicose liberada foi determinada através do bioanalisador (equipamento modelo YSI 2700 SELECT).

4.5 Hidrólise do bagaço de cana de açúcar

Os experimentos de hidrólise para a suspensão da biomassa da cana foram conduzidos em agitador rotatório da marca New Brunswick Scientific, modelo Innova 4340. As misturas reacionais continham 100g/L de bagaço e uma relação enzima/substrato de 10 FPU/g de biomassa seca. As misturas foram incubadas a 200 rpm, 50°C e pH 4,8 (tampão citrato de sódio 50 mM), durante 26 horas. A preparação enzimática continha uma proporção de atividade FPU/ β -glucosidase de 1:1. Tanto as condições de carga enzimática quanto a proporção FPU/ β -glucosidase, utilizadas neste trabalho não são as ideais para se atingir altos rendimentos de hidrólise da celulose da biomassa da cana pré-tratada como acima descrito. Estas condições são, entretanto, efetivas para provocar alterações nas condições reológicas do sistema em estudo. Estas alterações são o foco principal do presente estudo que visa o estudo do reator de hidrólise da biomassa da cana (Figura 4.4).



Figura 4.4 – Erlenmeyer contendo 100g/l de bagaço de cana e 10 FPU/g de bagaço e BGU (β -glucosidase) na relação 1:1.

A conversão de celulose em glicose foi calculada (Equação 4.2), baseando-se no teor de celulose obtido com a hidrólise ácida da biomassa.

$$\%C = \frac{G * f_{CG}}{f_{Cel} * S} * 100 \quad [4.2]$$

$\%C$ – Porcentagem de conversão celulose em glicose

G – Concentração de glicose

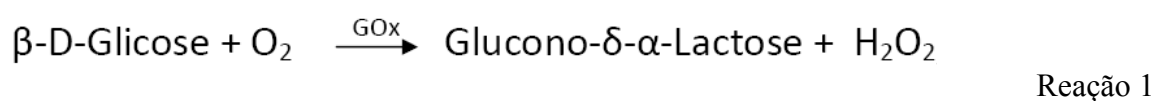
f_{CG} – Relação celulose/glicose

f_{Cel} – Relação celulose/biomassa

S – Concentração de substrato

4.6 Dosagem da concentração de glicose

A concentração de glicose foi determinada no bioanalisador (modelo YSI 2700 SELECT). A quantificação foi feita através da passagem do fluxo da amostra contendo glicose em uma membrana contendo enzima imobilizada (oxidase), este é difundido e rapidamente oxidado, produzindo peróxido de hidrogênio (reação 1), que então é oxidado no anodo de platina, produzindo um fluxo de elétrons (reação 2) o qual é linearmente proporcional a concentração de peróxido de hidrogênio, que também é proporcional a concentração de glicose.



As amostras foram acompanhadas em um período de 24 horas, sendo a amostragem feita em intervalos de 2 horas.



Figura 4.5 – Bioanalisador utilizado na dosagem de glicose.

4.7 Dosagem da concentração de açúcares redutores totais por espectroscopia

O reagente DNS, além de interromper a reação enzimática, possibilita a realização da dosagem da concentração de açúcares redutores produzidos pela ação enzimática (MILLER, 1959).

Para a determinação dos açúcares redutores totais utilizou-se o espectrofotômetro modelo, UV-1601 – SHIMADZU, com o qual se construiu uma curva padrão que relaciona a absorbância com o teor de glicose no meio. O fator de conversão estimado é usado para converter absorbância da amostra em concentração de açúcares redutores totais correspondentes em $\mu\text{mol/mL}$. Foram feitas amostragens de 2 em 2 horas em um período de 24 horas.

4.8 Reologia do hidrolisado

O comportamento reológico do hidrolisado foi avaliado em função do tempo de hidrólise utilizando-se um reômetro de cilindros coaxiais (ARES). As amostras foram coletadas em intervalo de 2 horas de hidrólise e, após inativação das enzimas para interromper a reação, a viscosidade aparente de cada amostra foi determinada em função da taxa de deformação (100 a 1200 s^{-1}), no módulo estacionário. A temperatura de análise selecionada foi de 50°C , que corresponde à temperatura do processo de hidrólise do bagaço de cana.

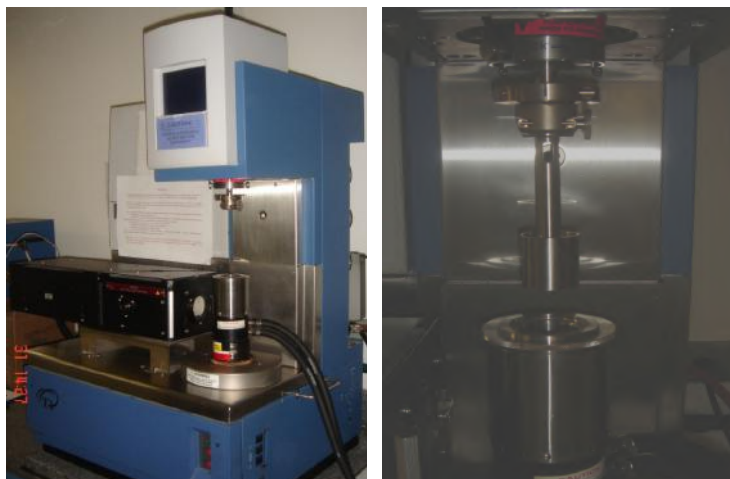


Figura 4.6– Reômetro utilizado para analisar as amostras do hidrolisado.

4.9 Procedimento para ampliação de escala

Foi utilizado um reator de mistura de um litro de capacidade útil (Biostat –B plus, SARTORIUS) com agitador do tipo turbina de 6 pás. O equipamento possui mesma geometria do misturador industrial. O experimento foi preparado na mesma diluição da reação conduzida em frasco agitado (100 g de bagaço de cana por litro de água). O ensaio teve por objetivo medir a faixa de rotação necessária para homogeneizar o bagaço de cana de açúcar com a água. As características geométricas do reator de bancada são indicadas na tabela 4.5:

Tabela 4.5 – Características geométricas do agitador.

Reator	Agitador
T = 10,84 cm	D = 4,5 cm
H = 10,84 cm	w = 0,9 cm



Figura 4.7– Reator utilizado para hidrólise enzimática do bagaço de cana.

4.10 Procedimento para determinação da densidade média do bagaço.

Para a determinação da densidade relativa (d_s) das partículas do bagaço de cana-de-açúcar foi usada a técnica de picnometria (Figura 4.9).

$$d_s = \frac{\rho_s}{\rho_{\text{água}}} = \frac{m_{PB} - m_{PV}}{(m_{PA} - m_{PV}) - (m_{PBA} - m_{PB})} \quad [4.3]$$

onde::

m_{PV} = Massa do picnômetro Vazio

m_{PB} = Massa do picnômetro + bagaço

m_{PBA} = Massa do picnômetro + bagaço + água

m_{PA} = Massa do picnômetro + água



Figura 4.8 – Picnômetro usado para determinação da densidade do bagaço.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Cinética de conversão

A mistura enzimática foi produzida por fermentação submersa para a obtenção de preparações com a carga de enzima necessária para a padronização dos ensaios de hidrólise. As atividades obtidas nas fermentações para produção de enzimas estão apresentadas na tabela 5.1, porém foram consideradas para o cálculo as atividades de FPase como base de cálculo e β -glucosidase, enzima essencial para obtenção da glicose.

A atividade de CMCCase não foi considerada para efeito de cálculo, para simplificação, entretanto a sua função é essencial no processo de conversão de biomassa.

Tabela 5.1– Atividades dos sobrenadantes das fermentações.

<i>Thricoderma RUT C30</i>		<i>Aspergillus Awamori</i>	
Atividade	UI/mL	Atividade	UI/mL
Fpase	1,6	Fpase	0,4
β-glucosidase	1,0	β-glucosidase	12,0

O gráfico da Figura 5.1 apresenta a cinética da reação enzimática em 100g/L de bagaço de cana tratado, que apresentou um teor de 44% (g/g) de celulose. A conversão máxima de celulose em glicose foi de 45% em 36 horas de reação, o que corresponde aproximadamente a uma concentração de glicose de 22 g/L. A concentração de açúcares redutores totais foi de 27 g/L em 36 horas de reação.

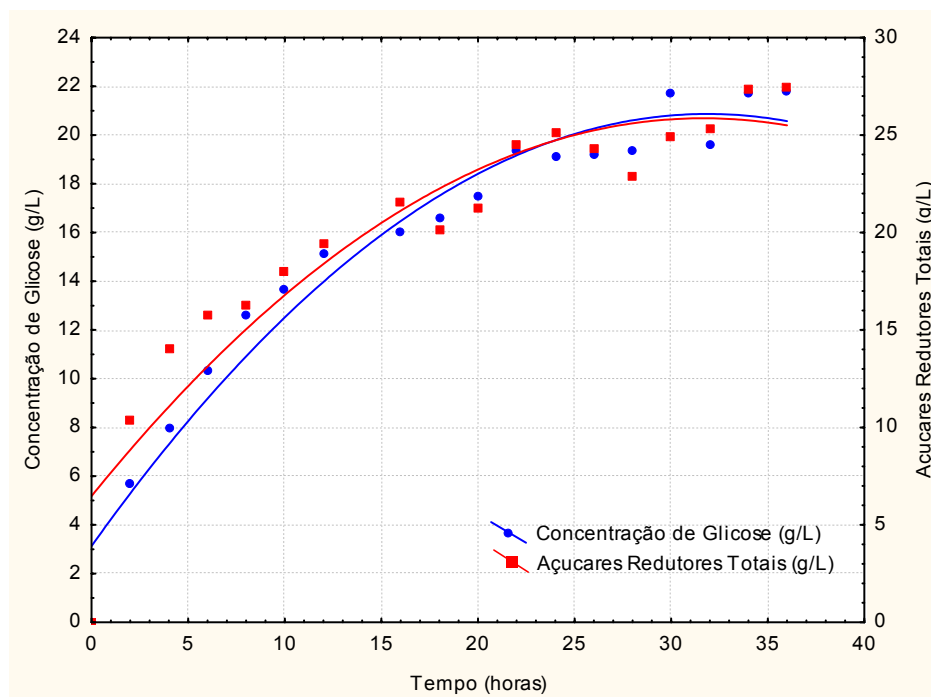


Figura 5.1 – Curva da cinética de conversão do bagaço de cana de açúcar em glicose via ação enzimática.

5.2 Dados reológicos

No gráfico da Figura 5.2 pode-se observar que a viscosidade aparente da mistura decresce com o aumento da taxa de deformação. Esse comportamento é característico dos fluidos pseudoplásticos e pode ser explicado pela modificação da estrutura das moléculas de cadeias longas com o aumento do gradiente de velocidade (taxa de deformação). As fibras do bagaço de cana tendem a se alinhar em paralelo às linhas de corrente, diminuindo a resistência ao escoamento (VIDAL-BEZERRA, 2000).

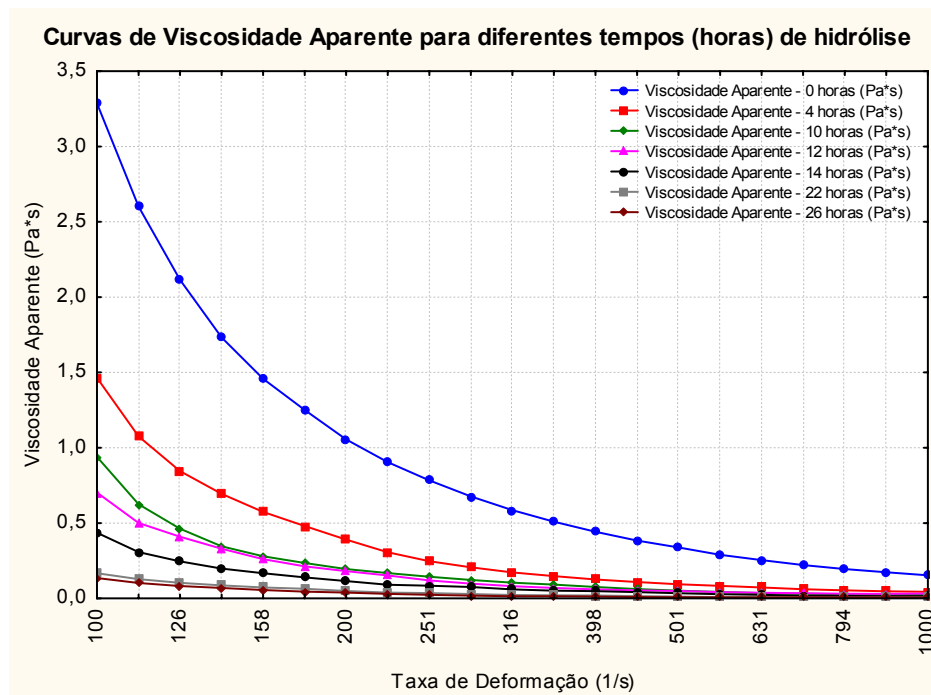


Figura 5.2 – Evolução do perfil reológico durante a hidrólise enzimática do bagaço de cana.

Quando o hidrolisado foi submetido a elevados gradientes de velocidades (taxas de deformação acima de 800 s^{-1}), observou-se que a mistura se aproxima do comportamento de um fluido newtoniano, provocado pelo alinhamento molecular. Na região de taxas de deformação intermediária (100 e 800 s^{-1}), observou-se uma redução na viscosidade aparente com o aumento da taxa de deformação, típica de fluido pseudoplástico. Segundo Steffe (1996), esta é a região mais importante para a avaliar a performance de equipamentos de mistura.

Como esperado, a viscosidade aparente da mistura inicial ($t=0$) é bastante alta, aproximadamente $3,5 \text{ Pa.s}$, porém com o progresso da hidrólise a viscosidade decresceu acentuadamente. A partir de 22 horas de reação a viscosidade aparente do hidrolisado apresentou uma variação relativamente baixa com valor assintótico em aproximadamente $0,007 \text{ Pa.s}$. Isto ocorre, provavelmente, devido a inibição da hidrólise devido a presença da glicose no meio.

5.2.1 Modelagem matemática para a estimativa da viscosidade aparente do hidrolisado em função do grau de conversão.

As curvas das Figuras 5.3 a 5.9 representam o comportamento da viscosidade aparente da mistura em função do tempo de hidrólise para diferentes valores da taxa de deformação, na faixa de 100 a 224 s⁻¹. Os parâmetros do modelo exponencial foram estimados, a partir dos pontos experimentais, utilizando-se o programa computacional Statistica 7.0. Os dados estatísticos da regressão estão apresentados nas tabelas 5.2 a 5.8.

A análise de variância (ANOVA) para validação do modelo proposto indicou um bom ajuste aos dados experimentais. O valor-F ($F > 1$) indica que os valores estimados não diferem de forma significativa dos valores observados. O p-valor, que representa o nível de significância da regressão, foi inferior a 0,05 em todos os ajustes, indicando um elevado nível de confiança nos parâmetros avaliados.

Nas tabelas 5.2 a 5.8, v_2 é a variável que representa a viscosidade aparente e v_1 representa o tempo de hidrólise no modelo.

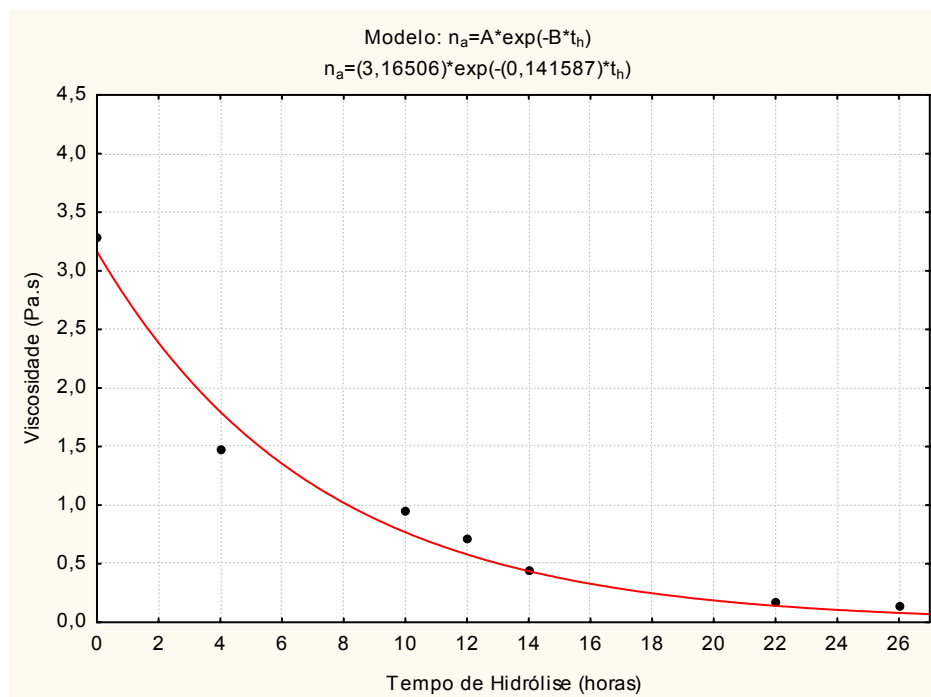


Figura 5.3 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (100 s⁻¹).

Tabela 5.2 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (100 s⁻¹).

Efeito	Modelo é: $v_2 = b_1 \cdot \exp(-b_2 \cdot v_1)$ Var. Dep. : Viscosidade (Pa.s)				
	Soma dos Quadrados	G.L.	Média dos Quadrados	F-valor	p-valor
Regressão	14,38620	2,000000	7,193098	207,4017	0,000015
Resíduos	0,17341	5,000000	0,034682		
Total	14,55961	7,000000			

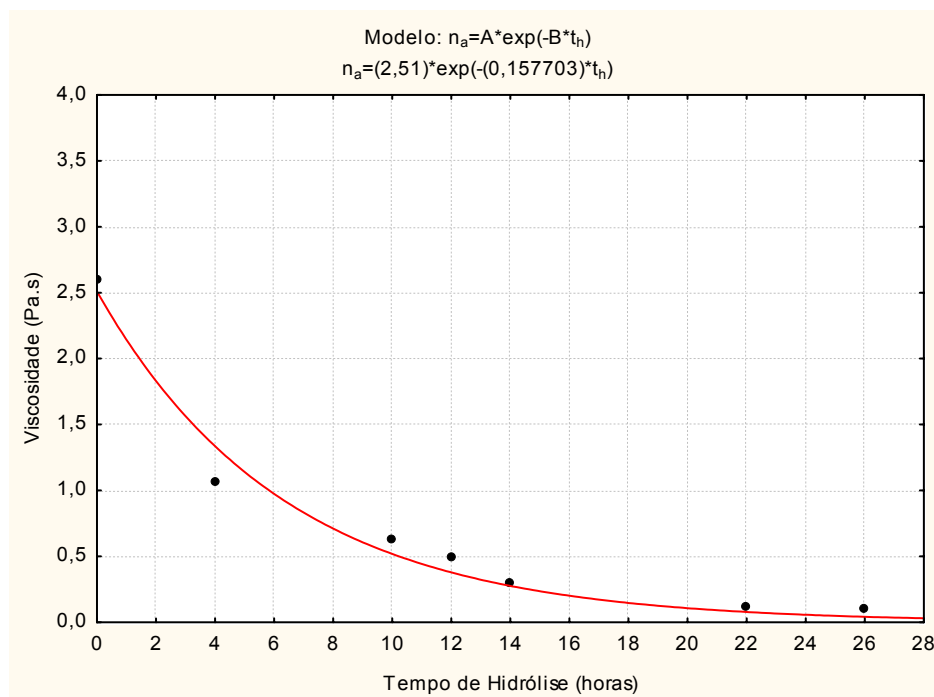


Figura 5.4 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (112 s⁻¹).

Tabela 5.3 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (112 s⁻¹).

Efeito	Modelo é: $v_2 = b_1 \cdot \exp(-b_2 \cdot v_1)$ Var. Dep. : Viscosidade (Pa.s)				
	Soma dos Quadrados	G.L.	Média dos Quadrados	F-valor	p-valor
Regressão	8,580196	2,000000	4,290098	195,5677	0,000018
Resíduos	0,109683	5,000000	0,021937		
Total	8,689879	7,000000			

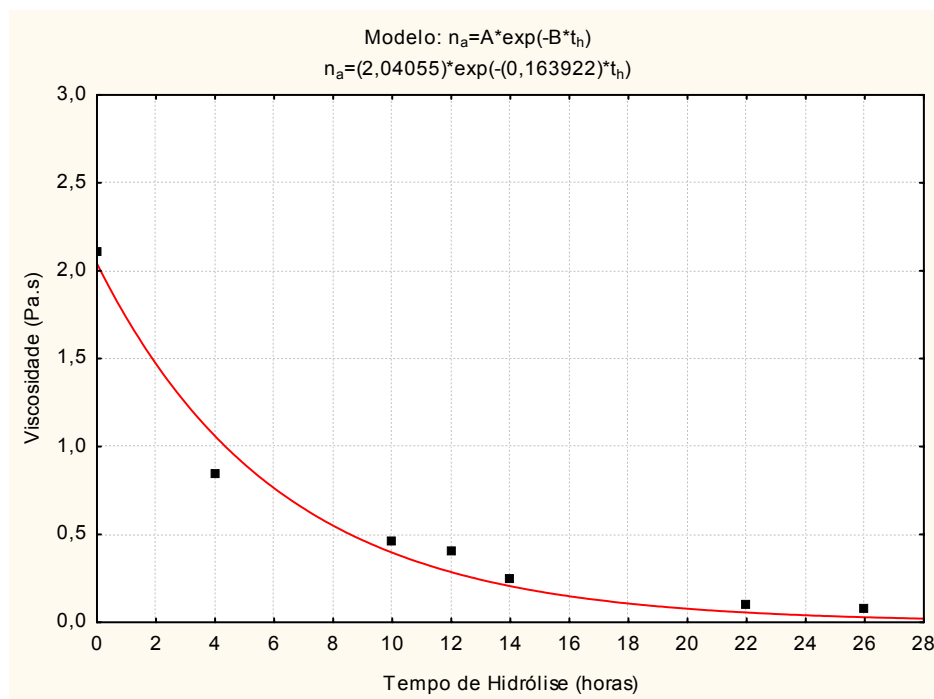


Figura 5.5 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (126 s⁻¹).

Tabela 5.4 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (126 s⁻¹).

Efeito	Modelo é: $v_2 = b_1 \cdot \exp(-b_2 \cdot v_1)$ Var. Dep. : Viscosidade (Pa.s)				
	Soma dos Quadrados	G.L.	Média dos Quadrados	F-valor	p-valor
Regressão	5,570369	2,000000	2,785184	178,4967	0,000022
Resíduos	0,078018	5,000000	0,015604		
Total	5,648387	7,000000			

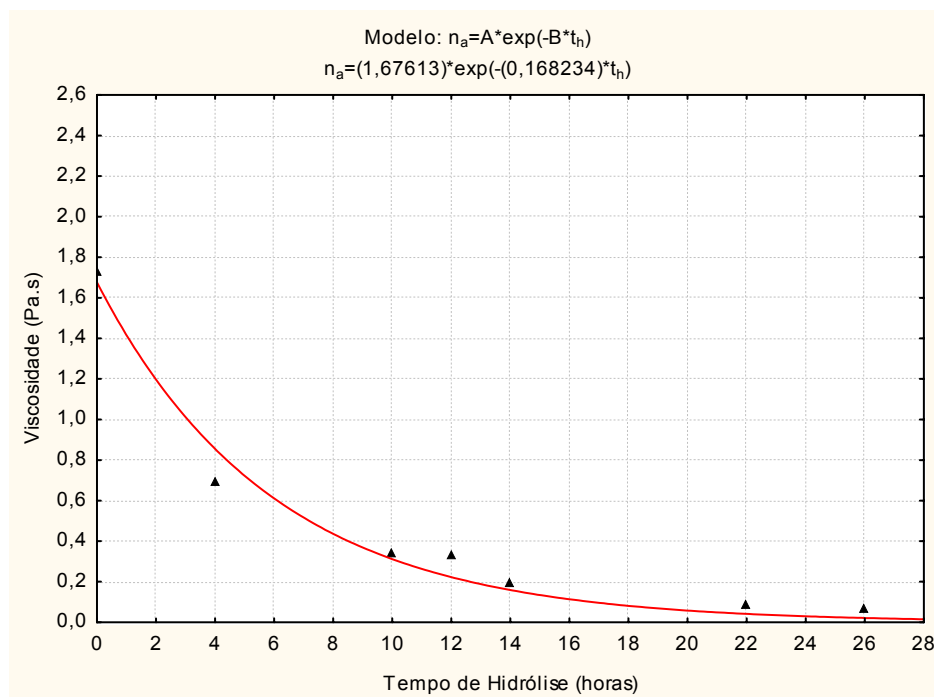


Figura 5.6 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (141 s⁻¹).

Tabela 5.5 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (141 s⁻¹).

Efeito	Modelo é: $v_2 = b_1 \cdot \exp(-b_2 \cdot v_1)$ Var. Dep. : Viscosidade (Pa.s)				
	Soma dos Quadrados	G.L.	Média dos Quadrados	F-valor	p-valor
Regressão	3,714850	2,000000	1,857425	194,3291	0,000018
Resíduos	0,047791	5,000000	0,009558		
Total	3,762640	7,000000			

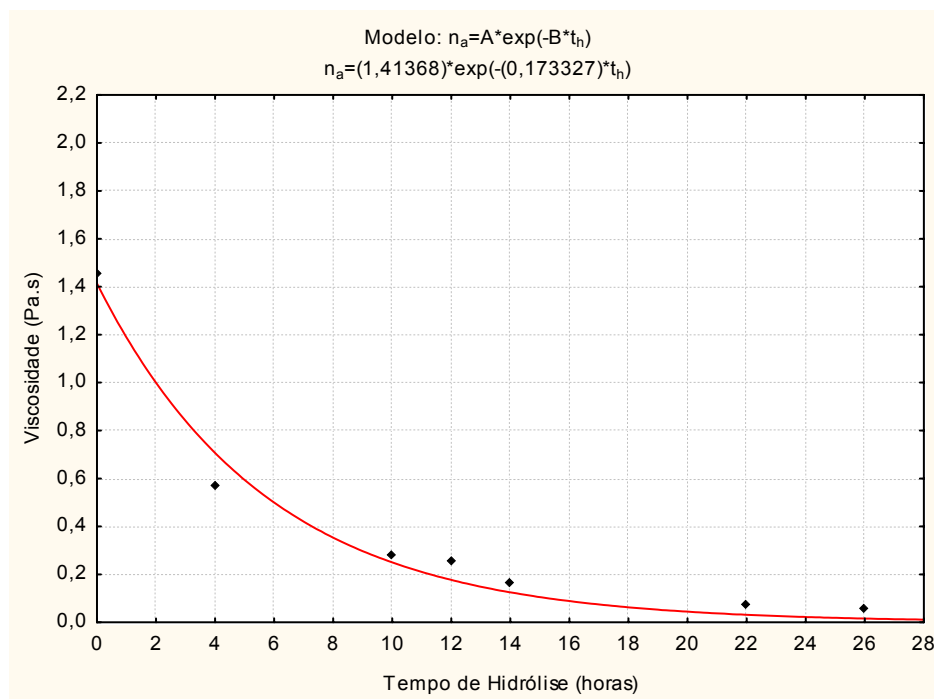


Figura 5.7 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (158 s⁻¹).

Tabela 5.6 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (158 s⁻¹).

Efeito	Modelo é: $v_2 = b_1 \cdot \exp(-b_2 \cdot v_1)$ Var. Dep. : Viscosidade (Pa.s)				
	Soma dos Quadrados	G.L.	Média dos Quadrados	F-valor	p-valor
Regressão	2,608376	2,000000	1,304188	198,1983	0,000017
Resíduos	0,032901	5,000000	0,006580		
Total	2,641277	7,000000			

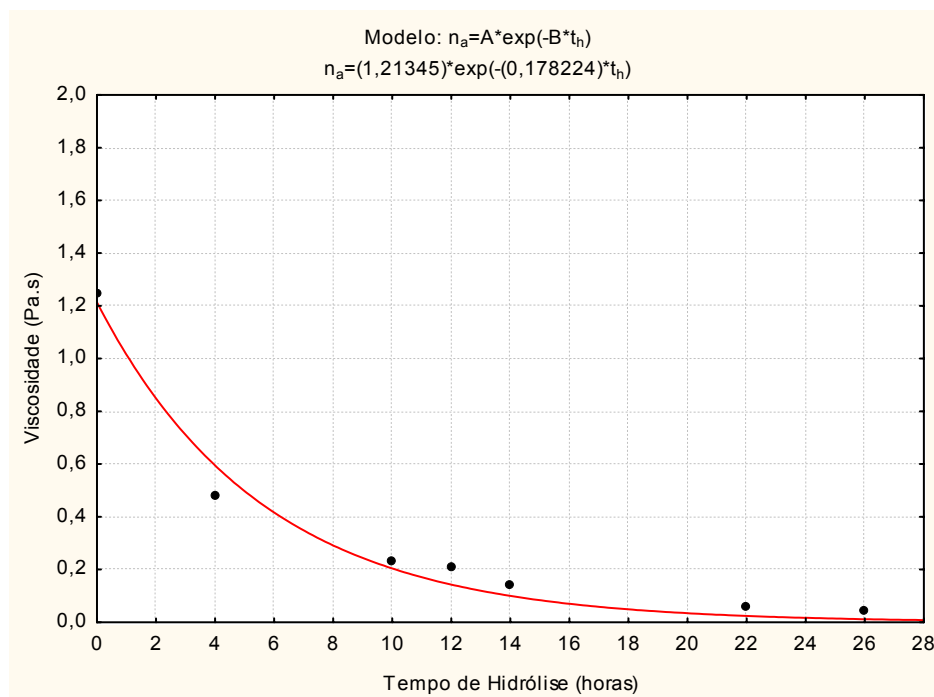


Figura 5.8 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (178 s-1).

Tabela 5.7 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (178 s-1).

Modelo é: $v_2 = b_1 \cdot \exp(-b_2 \cdot v_1)$					
Var. Dep. : Viscosidade (Pa.s)					
Efeito	Soma dos Quadrados	G.L.	Média dos Quadrados	F-valor	p-valor
Regressão	1,899193	2,000000	0,949597	191,5096	0,000019
Resíduos	0,024792	5,000000	0,004958		
Total	1,923986	7,000000			

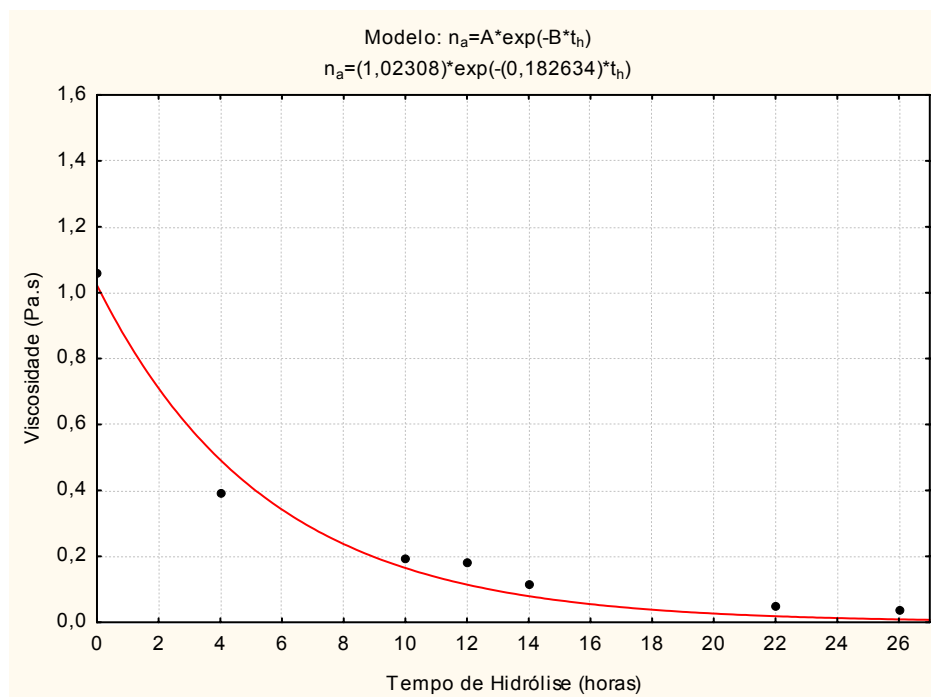


Figura 5.9 – Curva de ajuste da viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise: taxa de deformação (200 s⁻¹).

Tabela 5.8 – Análise de variância da regressão: taxa de deformação (200 s⁻¹).

Efeito	Modelo é: $v_2 = b_1 \cdot \exp(-b_2 \cdot v_1)$ Var. Dep. : Viscosidade (Pa.s)				
	Soma dos Quadrados	G.L.	Média dos Quadrados	F-valor	p-valor
Regressão	1,336419	2,000000	0,668209	165,5236	0,000027
Resíduos	0,020185	5,000000	0,004037		
Total	1,356604	7,000000			

O gráfico da Figura 5.10 apresenta a comparação dos dados de viscosidade aparente em função do tempo de hidrólise, gerados pelos modelos ajustados, para diferentes valores de rotação. A rotação foi estimada pela equação empírica:

$$\frac{du}{dy} = 10 * N$$

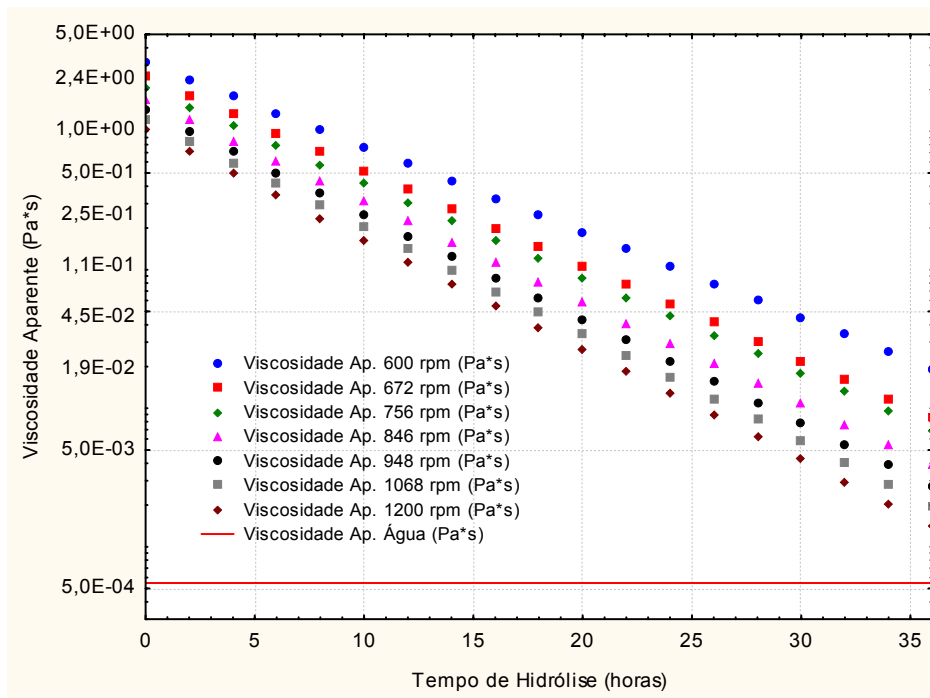


Figura 5.10 – Viscosidade aparente para diferentes rotações do misturador versus o tempo de hidrólise enzimática do bagaço de cana.

Pode-se concluir, a partir dos modelos gerados, que o aumento da rotação promove uma queda relevante na viscosidade aparente do hidrolisado. A viscosidade estimada para uma rotação de 1200 rpm decresce de 1 Pa.s (amostra em t=0) para cerca de 0,007 Pa.s, para a amostra coletada após 36 horas de hidrólise.

Fixada uma rotação, observa-se que a viscosidade aparente decai com o decorrer da reação enzimática mostrando assim, que o tempo de hidrólise e a rotação são parâmetros importantes que influenciam a viscosidade aparente da mistura.

Os resultados acima indicam que a rotação do misturador durante a hidrólise do bagaço de cana tratado deve ser reduzida continuamente, segundo um modelo exponencial. Este controle é importante para minimizar o consumo de energia nesta etapa do processo.

5.2.2 Viscosidade aparente em função da taxa de conversão.

As curvas da Figura 5.11 apresentam o efeito da conversão na viscosidade aparente da mistura. Pode-se observar que a viscosidade aparente tem comportamento similar para as diferentes rotações (600 a 1200 rpm) e que o efeito da conversão é mais acentuado a partir de 8 horas de hidrólise que corresponde a uma conversão de 26%. Após este tempo, a mistura se comporta como um fluido pseudoplástico. Provavelmente, até atingir um grau de conversão superior a 26%, a mistura apresente comportamento de fluido viscoelástico.

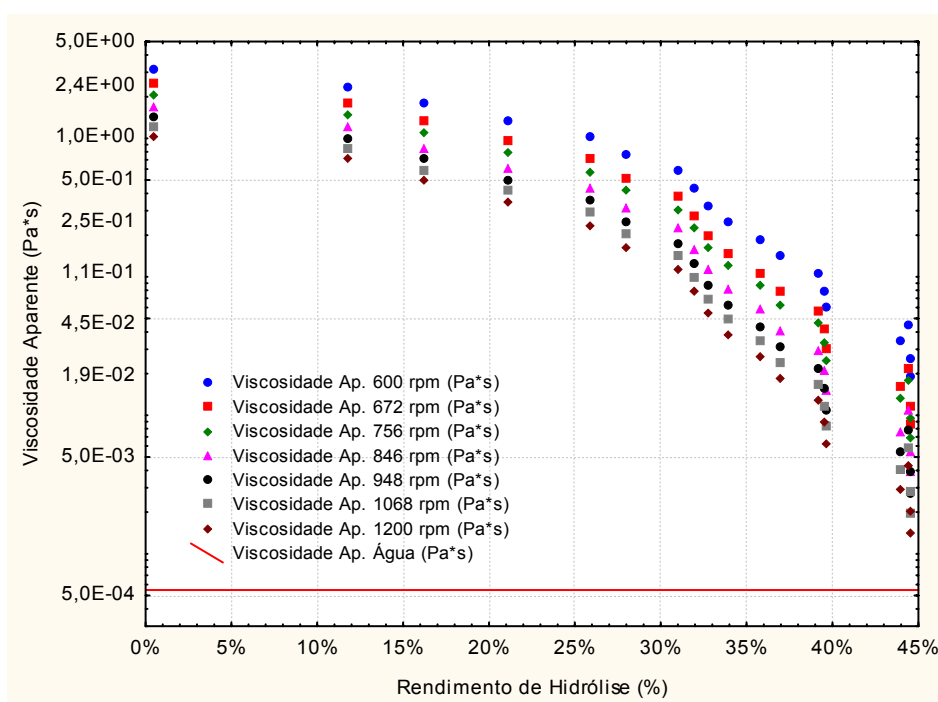


Figura 5.11 – Comparação dos dados de viscosidade gerados pelos modelos matemáticos versus conversão de celulose em glicose.

5.3 Determinação da densidade do bagaço de cana e da mistura reacional.

A tabela 5.8 apresenta os resultados obtidos para a densidade do bagaço e da mistura (bagaço e mistura enzimática) usando dados obtidos em picnômetro para sólidos. Os valores obtidos foram respectivamente: 1,42 g/cm³ (Bagaço) e 1,03 g/cm³ (mistura). A densidade da mistura é aproximadamente igual a da água. Essa propriedade é importante para calcular o número de Reynolds e será utilizado neste trabalho para estimar a potência mínima do agitador.

Tabela 5.9 – Densidade do bagaço de cana e da mistura reacional

Cálculo da densidade do bagaço de cana					
m _{PV}	m _{PB}	m _{PBA}	m _{PA}	d _r	ρ _S (g/cm ³)
27,2423	28,1918	55,1755	54,9112	1,39	1,39
21,3679	22,4821	46,4197	46,0667	1,46	1,46
				Média	1,42
c _S (g/L)	c _S (g/cm ³)	ρ _S (g/cm ³)	ρ (g/cm ³)	c _{sv}	ρ _m (g/cm ³)
100	0,1	1,42	1,00	0,0702	1,03

onde:

m_{PV} - Massa do picnômetro Vazio

m_{PB} - Massa do picnômetro + bagaço

m_{PA} - Massa do picnômetro + água

m_{PBA} - Massa do picnômetro + bagaço + água

ρ - densidade da água

ρ_S – densidade do bagaço

ρ_m – densidade da mistura

d_r - densidade Relativa

c_S - concentração de bagaço no reator

5.4 Determinação do Número de Reynolds da mistura

A tabela 5.9 apresenta a variação do número de Reynolds em função do tempo de hidrólise em três rotações selecionadas.

Tabela 5.10 – Número de Reynolds para as diferentes rotações selecionadas.

Número de Reynolds (N_{Re})							
Tempo de Hidrólise (horas)	Rotação (600 rpm)		Rotação (846 rpm)		Rotação (1200 rpm)		
0	144	Regime de Transição	382	Regime Transição	888	Regime Transição	
2	190		535		1279		
4	253		749		1844		
6	336		1048		2656		
8	445		1468		3828		
10	591		2055		5515		
12	785		2877		7947		
14	1042		4028		11451		
16	1383		5639		16499		
18	1835		7894		23774		
20	2436		11052		34256		Regime Turbulento
22	3234		15473		49359		
24	4292		21662		71122		
26	5697		30327		102479		
28	7562	42457	147663				
30	10037	59440	212767				
32	13323	83216	306576				
34	17684	116502	441745				
36	23472	163102	636511				

O número de Reynolds foi estimado através da equação 3.9 para um tanque de 100 litros. Pela similaridade geométrica, esse volume corresponde a um diâmetro de agitador de 21 cm. Como mostrado na tabela 5.9, a viscosidade diminui com o tempo de hidrólise e, como consequência, o número de Reynolds varia inversamente.

A análise do gráfico mostra que no início da hidrólise, nas três rotações selecionadas (600rpm, 846rpm, 1200rpm), a mistura reacional apresenta um comportamento de regime de transição, Reynolds abaixo de 10.000. No entanto, fixando-se a rotação em 600rpm, o regime turbulento é alcançado após 30 horas de hidrólise; a 846rpm, o regime turbulento é atingido após 20 horas de reação, e a 1200rpm o regime turbulento é alcançado após 14 horas de

hidrólise. Esse comportamento era esperado, pois a mistura reacional apresenta um comportamento pseudoplástico, cuja viscosidade diminui com o aumento da rotação.

5.5 Estimativa da Potência mínima para o reator de mistura

5.5.1 Agitador do tipo Turbina Rushton

As tabelas de 5.10 a 5.12 apresentam as especificações dos parâmetros para a estimativa da potência da mistura (eq.3.12) considerando um volume útil de reator igual a 100 litros. As dimensões do reator e do misturador foram calculadas usando os conceitos de similaridade geométrica.

Tabela 5.11 – Condições operacionais para agitadores do tipo turbinas Rushton.

Agitador do Tipo Turbina Rushton Para Tanques sem Chicanas			
Condições de Operação: N= 600 rpm			
Densidade (kg/m ³)		1030,0	
Viscosidade (kg/m.s)		3,165-0,019	
Rotação (rpm)		600	
Tempo de Hidrólise (horas)		0 – 36	
Geometria do Tanque/Agitador		Relações Geométricas	
T (m)	0,50	D/T	0,42
D (m)	0,21		

Calculo de potência utilizando as correlações de Nagata, (1975).

Tabela 5.12 – Condições operacionais para agitadores do tipo turbinas Rushton.

Agitador do Tipo Turbina Rushton Para Tanques sem Chicanas			
Condições de Operação: 846 rpm			
Densidade (kg/m ³)		1030,0	
Viscosidade (kg/m.s)		1,676-0,004	
Rotação (r.p.m)		846	
Tempo de Hidrólise (horas)		0 – 36	
Geometria do Tanque/Agitador		Relações Geométricas	
T (m)	0,50	D/T	0,42
D (m)	0,21		

Calculo de potência utilizando as correlações de Nagata, (1975).

Tabela 5.13 – Condições operacionais para agitadores do tipo turbinas Rushton

Agitador do Tipo Turbina Rushton Para Tanques sem Chicanas			
Condições de Operação: 1200 rpm			
Densidade (kg/m ³)		1030,0	
Viscosidade (kg/m.s)		1,023-0,001	
Rotação (r.p.m)		1200	
Tempo de Hidrólise (horas)		0 – 36	
Geometria do Tanque/Agitador		Relações Geométricas	
T (m)	0,50	D/T	0,42
D (m)	0,21		

Cálculo de potência utilizando as correlações de Nagata, (1975).

A tabela 5.13 apresenta a potência da mistura estimada em função do tempo de hidrólise para as três rotações selecionadas.

Tabela 5.14 – Potência de mistura calculada para diferentes rotações do misturador.

Potência de Mistura (Watts)			
Tempo de Hidrólise (horas)	Rotação (600 rpm)	Rotação (846 rpm)	Rotação (1200 rpm)
0	4.512	3.368	3.877
2	2.988	2.286	2.793
4	2.026	1.604	2.095
6	1.408	1.164	1.636
8	1.003	874	1.330
10	731	679	1.123
12	546	546	983
14	418	454	887
16	327	390	821
18	263	345	775
20	216	313	744
22	182	291	722
24	157	275	707
26	139	264	697
28	125	256	689
30	115	250	684
32	107	246	681
34	101	243	679
36	97	241	677

Calculada a partir das correlações de Nagata, para a turbina Rushton (1975).

A potência necessária para a mistura utilizando um agitador do tipo turbina Rushton reduz, com o progresso da reação enzimática em consequência da variação na viscosidade. Observa-se que nas primeiras 8 horas a redução foi mais severa devido à velocidade inicial da hidrólise, que corresponde à velocidade máxima de conversão.

Para rotação de 600rpm, a potência mínima inicial no reator ($t=0$) foi de aproximadamente 4,5 kW, reduzindo para 97 watts após 36 horas de reação. A estimativa da potência para uma rotação de 846rpm foi de aproximadamente 3,4 kW no início da reação enzimática, e reduzindo para 241 watts, após 36 horas de reação. Para uma rotação de 1200rpm a potência variou de 3,9 kW aproximadamente no tempo zero para 677 watts após 36 horas de reação.

Vale ressaltar que a potência mínima de mistura é a energia por unidade de tempo necessária para superar as forças de resistência viscosas atuantes sobre a pá do agitador. Para avaliar o consumo total de energia deve-se levar em conta o gasto de energia do sistema mecânico.

5.5.2 Agitador do tipo Pá – pás inclinadas

Tabela 5.15 – Condições operacionais para agitadores do tipo pá inclinadas.

Agitador do Tipo Pás Inclinadas Para Tanques sem Chicanas			
Condições de Operação: 600 r.p.m			
Densidade (kg/m ³)		1030,0	
Viscosidade (kg/m.s)		3,165-0,019	
Rotação (rpm)		600	
Tempo de Hidrólise (horas)		0 - 36	
Geometria do Tanque/Agitador		Relações Geométricas	
T (m)	0,50	D/T	0,42
D (m)	0,21	w/D	0,22
H (m)	0,50	H/T	1
w (m)	0,05	np	2
Ângulo da pá	45°		

Calculo de potência utilizando as correlações de *Nagata*, (1975).

Tabela 5.16 – Condições operacionais para agitadores do tipo pá inclinadas.

Agitador do Tipo Pás Inclinadas Para Tanques sem Chicanas			
Condições de Operação: 846 r.p.m			
Densidade (kg/m ³)		1030,0	
Viscosidade (kg/m.s)		1,676-0,004	
Rotação (r.p.m)		846	
Tempo de Hidrólise (horas)		0 - 36	
Geometria do Tanque/Agitador		Relações Geométricas	
T (m)	0,50	D/T	0,42
D (m)	0,21	w/D	0,22
H (m)	0,50	H/T	1
w (m)	0,05	np	2
Ângulo da pá	45°		

Calculo de potência utilizando as correlações de Nagata, (1975).

Tabela 5.17 – Condições operacionais para agitadores do tipo pá inclinadas.

Agitador do Tipo Pás Inclinadas Para Tanques sem Chicanas			
Condições de Operação: 1200 rpm			
Densidade (kg/m ³)		1030,0	
Viscosidade (kg/m.s)		1,023-0,001	
Rotação (rpm)		1200	
Tempo de Hidrólise (horas)		0 - 36	
Geometria do Tanque/Agitador		Relações Geométricas	
T (m)	0,50	D/T	0,42
D (m)	0,21	w/D	0,22
H (m)	0,50	H/T	1
w (m)	0,05	np	2
Ângulo da pá	45°		

Calculo de potência utilizando as correlações de Nagata, (1975).

A tabela 5.17 apresenta a potência estimada para a mistura utilizando um agitador do tipo pá inclinada com ângulo de 45 graus mantendo o volume e a similaridade geométrica do caso anterior, estimativa com a turbina Rushton.

Tabela 5.18 – Potência de mistura calculada para as diferentes rotações.

Potência de Mistura (Watts)			
Tempo de Hidrólise (horas)	Rotação (600 rpm)	Rotação (846 rpm)	Rotação (1200 rpm)
0	446	927	1.995
2	408	834	1.727
4	375	744	1.470
6	344	656	1.228
8	315	571	1.008
10	288	489	815
12	261	413	650
14	235	343	515
16	209	282	408
18	184	229	324
20	160	185	261
22	138	149	213
24	118	120	177
26	100	98	150
28	84	81	130
30	70	68	115
32	58	58	104
34	49	50	95
36	41	44	89

Calculado utilizando-se as correlações de Nagata, para pá inclinada (1975).

A simulação do consumo de energia com as três rotações selecionadas apresentaram uma redução na potência de mistura sendo o seu máximo no tempo zero, início da reação. A simulação com a rotação de 600rpm mostrou que no início da reação a potência de mistura do processo foi de 446 watts. Após 36 horas de reação a potência estimada caiu para 41 watts. Na rotação de 845 rpm a potência inicial necessária para a mistura foi de 927 watts reduzindo, ao final das 36 horas, para 44 watts. Neste caso, o processo não alcançou uma potência superior a 1 kW. A 1200 rpm, a potência estimada para a mistura foi de aproximadamente 2,0 kW e ao final da reação, reduziu para 89 watts.

5.6 Comparação dos agitadores do tipo turbina Rushton e Pá (pás inclinadas)

Comparando as simulações da potência de mistura da turbina Rushton com o agitador de pá inclinada para uma rotação de 600 rpm observa-se que com a pá inclinada a potência necessária para a mistura é dez vezes menor do que com a turbina Rushton no início da reação, tempo zero. Esse resultado é coerente com relatos de literatura, no qual a turbina Rushton demanda maior potência (SILVA, 2002).

Tabela 5.19 – Comparação entre os dois tipos de agitadores estudados.

Potência de Mistura (Watts)		
Tempo de Hidrólise (horas)	Rotação (600 rpm) Tipo Pá	Rotação (600 rpm) – tipo Rushton
0	446	4.512
2	408	2.988
4	375	2.026
6	344	1.408
8	315	1.003
10	288	731
12	261	546
14	235	418
16	209	327
18	184	263
20	160	216
22	138	182
24	118	157
26	100	139
28	84	125
30	70	115
32	58	107
34	49	101
36	41	97

A turbina Rushton é caracterizada pela presença de fluxo radial, apropriado para reações com alta turbulência, com alto consumo de potência, como mostrado nos resultados analisados anteriormente. Entretanto, além de exigir menor potência de mistura, o agitador de pá inclinada apresenta fluxo axial, que é geralmente desejado em processos de fluxo controlado contendo sólidos em suspensão.

6 CONCLUSÕES

A eficiência de conversão de celulose, presente na biomassa da cana, em glicose foi de 45% após 36 horas, sendo obtidos xaropes de biomassa com uma concentração em glicose de 22g/L.

O conhecimento do grau de conversão e das características reológicas da mistura permitiram a seleção do tipo de agitador mais adequado ao reator de hidrólise enzimática da biomassa da cana.

O agitador de pá inclinada foi o que apresentou menor consumo de energia, dez vezes menor do que a turbina Rushton, para a homogeneização do bagaço de cana.

A rotação do misturador pode ser controlada continuamente durante a hidrólise uma vez que a viscosidade da mistura decresce exponencialmente com o grau de conversão.

7 REFERÊNCIAS

- ATALLA, R.H.. The structures of native celluloses. In: Foundation for biotechnical and industrial fermentation research. Atalla, RH. Ed.; Espoo: Finland. 8: 25-39. 1993
- BAYER, E.A. & LAMED, R.. The cellulose paradox: pollutant par excellence and/or a reclaimable natural resource? *Biodegradation*, 3: 171-188, 1992.
- BÉGUIN, P. E.; AUBERT, J.P.. The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiol. Rev.*, 13: 25-58, 1994.
- BON, E. P. S. ; FERRARA, Maria Antonieta ; CORVO, Maria Luisa ; VERMELHO, Alane Beatriz ; PAIVA, Carmem Lúcia Antão ; ALENCASTRO, Ricardo Bicca ; COELHO, Rosalie Reed Rodrigues. *Enzimas em Biotecnologia: Produção, Aplicações e Mercado*. Rio de Janeiro: EDITORA INTERCIÊNCIA, 2008.
- BOUDET, A.M., Lapierre, C., Grima-Pettenati, J. *Biochemistry and molecular biology of lignification*. *New Phytologist* 129: 203-236 (1995).
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA e ABASTECIMENTO. Balanço nacional de cana-de-açúcar e agroenergia / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento . Secretaria de Produção em Agroenergia – Brasília, MAPA/SPAEP, p. 139, 2007.
- CGEE. “Estudo sobre as possibilidades e impactos da produção de grandes quantidades de etanol visando à substituição parcial de gasolina no mundo”. Relatório final, Centro de Gestão e Estudos Estratégicos CGEE-Nipe/Unicamp, dezembro de 2005.
- CHANG, M. M., CHOU, T. Y. C. & TSAO, G. T. 1981. Structure, pretreatment and hydrolysis of cellulose. *Adv. Biochem. Eng.*, 14: 15-43.
- COUGHLAN, M.P.. Enzymatic hydrolysis of cellulose: An overview. *Bioresource Technol.*, 39: 107-115, 1992.

- COUGHLAN, M. P. e LJUNGDAHL, G., em Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation, Ed. Aubert, Beguin e Millet, Academic Press Limited, 1988, 11-30
- ESPINOSA-SOLARES, T.; BRITO-DE LA FUENTE, E.; TECANTE, A.; MEDINA-TORRES, L.; TANGUY, P. A. Mixing time in rheologically evolving model fluids by hybrid dual mixing systems. Institution of Chemical Engineers Trans IChemE, v. 80, Part A, 2002.
- FILHO, LAURO VEIGA (maio de 2008). Energia Sustentável Dinamiza a Economia. Valor Econômico – Especial, Etanol de cana de açúcar, p. 8.
- FOCHER, B.; MARZETTI, A.; CRESCENZI, V. Steam Explosion Techniques: Fundamentals and Industrial Applications, Gordon and Breach, Reading, UK. p.413, 1988.
- FOGLER, H. S., ELEMENTOS DE ENGENHARIA DAS REAÇÕES QUÍMICAS, LTC-LIVROS TÉCNICOS E CIENTÍFICOS ED. S.A., 3ª. ED., RJ, BRASIL, 2002.
- FOX, R.W., MCDONALD, A. T., 2001, Introdução à Mecânica dos Fluidos, Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro.
- GOSH, B.K. & GOSH A.. Degradation of cellulose by fungal cellulase. Em: Winkelmann, G. (Ed.): Microbial Degradation of Natural Products. VCH, Verlag Weinheim, New York. p. 84-121, 1993.
- GHOSE, T.K.. Measurement of cellulase activities. Pure & Appl. Chem., 59 (2): 257-268, 1987.
- GHOSH, P.; SINGH, A. Adv. Appl. Microbiol. v. 39, p. 295-333, 1993.
- IMTHURM, A. ; RAMOS, Luiz Pereira ; MATHIAS, A. L. . Termoestabilidade de ligninas obtidas por explosão a vapor de cavacos de Pinus taeda à pirólise.. In: 23a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2000, Poços de Caldas. Resumos. São Paulo, SP : Sociedade Brasileira de Química, 2000. v. 2. p. TC 18.

- INOVAÇÃO UNICAMP. “Interesse por etanol cresce no mundo desenvolvido; Brasil pode aumentar exportações para os EUA e para União Européia”. 17.4.2006. Disponível em: <<http://www.inovacao.unicamp.br/report/le-exportetanol.shtml>>. Acesso em: 20.8.2008 (2006b).
- IRWIN, D.; SPEZIO, M.; WALKER L.P.; WILSON D.B. Activity studies of eight purified cellulases: specificity, synergism and binding domain effects. *Biotechnol Bioeng.* 42:1002–13, 1993.
- KIRK, T. K., FARRELL, R. L. Enzymatic “combustion”: The microbial degradation of lignin. *Annu Rev. Microbiol* 41:465-505. 1987.
- KIRK, T, CULLEN, D. Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white rot fungi In Young, R. A., Atkhar, M., (eds.) *Environmentally Friendly Technologies for Pulp and Paper Industry*, John Wiley & Sons, Inc (1998).
- KUHAD, R.C., Singh, A. Eriksson, K. Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls in biotechnology in pulp and paper industry, Scheper, T., Springer, 1997.
- LARSSON, S., PALMQVIST, E., HAHN-HÄGERDAL, B., TENGBORG, C. STENBERG, K. ZACCHI, G., NILVEBRANT, N-O. 1998. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. *Enzyme Microb. Technol.*, 24: 531-536.
- LEHNINGER, A. L. *Bioquímica Vol. I – 2ª edição*. EDITORA EDGARD BLÜCHER, 2002.
- LYND, L. R., WEIMER, P. J., ZYL, W. H., PRETORIUS, I. S.. *Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. Microb. Molec. Biol. Reviews*, 66 (3): 506-577, 2002.
- MANDELS, M. & WEBER, J.. *Production of cellulases. Adv. Chem. Ser.*, 95: 391-414, 1969
- MARIOTTO, J. R. *Relatório de estágio de docência – Cinética Enzimática*, 2006.
- MCCABE, W.L., Smith, J.C. and Harriot, P., *Unit Operations of Chemical Engineering*, International ed., McGraw-Hill, New York , 2001.

- MILLER, G. L.. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Anal. Chem. 31: 426-428, 1959
- NAGATA, S. Mixing – Principles and Applications, Kodansha Scientific Books, 1975.
- OLDSHUE, J. M. Fluid Mixing Technology. Chemical Engineering. McGraw-Hill. First edition, 1983.
- PEREIRA JR., Nei. “Biotecnologia de materiais lignocelulósicos para a produção química”. EQ/UFRJ, Prêmio Abiquim de Tecnologia 2006.
- PERRY, Robert H., GREEN, Don W. Perry’s Chemical Engineer’s Handbok, 8th ed., 2007.
- RAMOS, L. P.; SADDLER, J. NACS .Aproveitamento integral de resíduos agrícolas e agroindustriais.. Symposium Series, 566, p. 325-341, 1994b.
- RAMOS, L.P.; Breuil, C.; SADDLER, J.N. (1992a) Appl. Biochem. Biotechnol., 34/35,37-48
- RAMOS, L.P.; Breuil, C.; Kushner, D.N.; Saddler, J.N. (1992b) Holzforschung, 46, 149-154
- RAMOS, L. P.; Breuil, C.; Saddler, J. N. (1993) Enzyme Microb. Technol., 15, 19-25
- RAMOS, L. P.; Carpes, S. T.; Silva, F. T.; Ganter, J. L. M. S. (2000) Brazilian Arch. Biol.Technol. 43 (no prelo)
- RAMOS, L. P.; Saddler, J. N. (1994a) Appl. Biochem. Biotechnol., 45/46, 193-207.
- SILVA, J. L. G. da. Análise crítica das correlações e parâmetros fundamentais em sistemas de agitação / Jefferson Luiz Grangeiro da Silva - - Campinas, SP, 2002.
- SJÖSTRÖM, E., Wood chemistry: Fundamentals and application, Academic Press Inc., Cap. 1, 3 e 4, (1981).
- STEEFE, J. F. Rheological Methods in Food Process Engineering. 2nd edition. East Lansing - Freeman Press. 1996. 412p.
- TAVARES, A.P.M., Coelho, M.A.Z., Coutinho, J.A.P., Xavier, A.M.R.B.. Optimization and modelling of laccase production by Trametes versicolor in bioreactor using statistical experimental design, Applied Biochemistry and Biotechnology, in press (2006).

- TEERI, T. Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases. *Trends in Biotechnology* 15: 160-167 (1997).
- UHL, V. and GRAY, Mixing: Theory and Practice, volume I, II e III. Academic Press, London (1966).
- VIDAL-BEZERRA, J. R. M. Comportamento reológico da polpa de manga. Campinas, 2000. 159p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- VON SIVERS, M. & ZACCHI, G. 1996. Ethanol from lignocellulosics: A review of the economy. *Biores. Technol.*, 56: 131-140.
- WYMAN, C. E. 1994. Fuel ethanol production from agricultural lignocellulosic feedstocks – A review. *Fuel Science Technol. Int't.*, 12: 1427-1473.
- WOOD, T. M.; SADDLER, J. N. Increasing the availability of cellulose in biomass materials. *Meth. Enzymol.*, v. 160, p. 3-11, 1988.
- WULFF, N. A. Caracterização enzimática das celulases XF-810, XF-818 e XF-2708 de *Xylella fastidiosa* e purificação da proteína XF- 818, expressas em *Escherichia coli* / Nelson Arno Wulff - - Piracicaba, 2002.
- ZANDONÁ FILHO, A. Modificação das qualidades processuais de fibras celulósicas através do uso de enzimas. Curtitiba 2001. 193 f. Tese (doutorado em Processos Biotecnológicos, setor de Tecnologia UFPR).