

## CAPÍTULO III

# BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA RESIDUAL DE FRIGORÍFICO DE BOVINOS COMO MATÉRIA-PRIMA EM PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS

*Victor Hugo Gomes Sales*

*Elisa Maria de Oliveira*

*Emerson Adriano Guarda*

*Wardsson Lustrino Borges*

---

*Neste capítulo apresentaremos informações que permitirão ao leitor conhecer sobre o consumo energético nos próximos anos, bem como os conceitos de biorrefinaria, suas principais matérias-primas e plataformas. Apresentar a matéria-prima residual de frigorífico de bovinos como uma fonte promissora para a produção de biocombustíveis de segunda geração e/ou prospecção de microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas, verificando o seu potencial para uso em diversos processos biotecnológicos.*

### **Introdução**

A sociedade humana é altamente dependente de energia em seus mais diversos aspectos, seja para o bem-estar individual, coletivo ou até mesmo no desempenho industrial e prestação de diversos serviços, dessa forma o fornecimento de energia está na dinâmica operacional da sociedade (SILVA, 2010). O aumento do consumo de energia está diretamente relacionado com o crescimento econômico mundial, e boa parte dessa energia consumida provém principalmente da queima de petróleo, carvão e gás natural, fontes fósseis não renováveis (DEMIRBAS; DEMIRBAS, 2007).

A crescente combustão dessas fontes não renováveis, propiciam elevada emissão de gases de efeito estufa, ocasionando impactos ambientais que contribuem nas alterações climáticas. De acordo com Pereira Jr et al. (2008) é necessário que seja realizada mudanças importantes no consumo e nos padrões atuais de industrialização, visando reduzir esses impactos ambientais. Assim, é necessário criar um novo padrão de produção de energia e a apresentação de novas configurações para os arranjos produtivos, que levem em consideração uma matriz energética mais sustentável, diversificada e que utilize fontes renováveis.

Neste contexto, e por motivos econômicos, geopolíticos e ambientais, as atenções se voltam para fontes alternativas de energia, em especial os biocombustíveis. Datar et al. (2007), informa que a energia proveniente da biomassa é uma dessas fontes renováveis promissora, mas ressalva, que essa matéria-prima utilizada para a produzir, deve vir de culturas não alimentares ou de resíduos agrícolas, sendo denominadas de matérias-primas de segunda geração. De acordo com Furlan (2009) o bioetanol é o biocombustível com as perspectivas mais promissoras para o futuro, pois esse não é dependente de reservas petrolíferas, são obtidos de fontes renováveis e apresentam baixos níveis de emissões de gases de efeito estufa. Uma outra vantagem apresentada por Menon e Rao (2012) é que a produção do biocombustível de segunda geração não interfere nos preços dos alimentos, devido a não competição com as culturas alimentares.

Na conversão de material lignocelulósico em bioetanol, se pode fazer uso de diversas fontes renováveis abundantes, mas que, em grande parte pouco exploradas, como exemplos: palhadas de milho, de trigo e de arroz e resíduos florestais (como serragem) (INGRAM; DORAN, 1995, ZALDIVAR et al., 2001). Além dessas fontes, Cardona e Sánchez (2007) destacam que os resíduos agroindustriais e domésticos são matérias-primas potenciais para a produção de biocombustíveis.

Em frigoríficos, assim como em vários tipos de indústria do segmento alimentício, há um alto consumo de água, e esse alto consumo acarreta diretamente e uma grande geração de volumes de efluentes. Segundo Pacheco (2008) de toda a água consumida no processamento, 80 a 90% são descarregadas como efluente líquido em sistemas convencionais de tratamento. Esses efluentes apresentam além da elevada vazão, uma grande carga de sólidos em suspensão, nitrogênio orgânico e uma DBO5 de aproximadamente 4.200 mg/L (AGUILAR et al., 2002).

Diante desse contexto, encontrar substitutos para a produção de combustíveis não renováveis é de fundamental importância para a manutenção da qualidade de vida nos próximos anos e nada mais racional do que os produzir com base em matéria orgânica renovável (biomassa). Assim, o conteúdo ruminal bovino se apresenta como uma promissora matéria-prima para a produção de biocombustíveis de segunda geração.

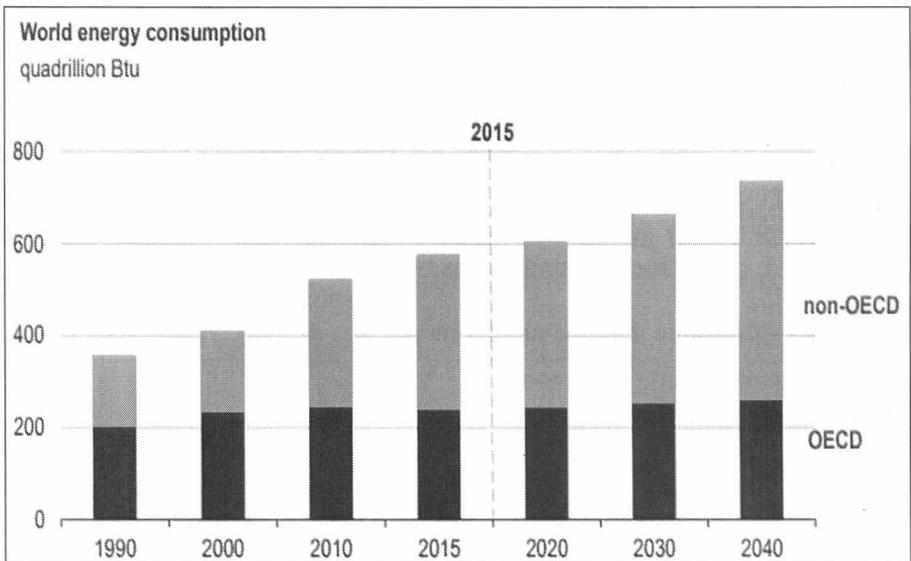
## **Consumo energético mundial**

Fazendo uma retrospectiva sobre as fontes de energia usadas pela humanidade desde sua pré-história, fica evidente que, o início da revolução industrial marcou profundamente a sociedade humana, onde houve a mudança entre o desenvolvimento incremental de fontes de baixa potência, para rápidos avanços a partir de fontes de alta potência, ou seja, passamos da simples queima de lenha para a produção de energia em reatores nucleares, em pouco mais de um século, demonstrando a capacidade que o ser humano tem de transformar e ampliar a sua matriz energética.

Para Osaki et al. (2012) a necessidade de fornecer energia em escala cada vez maior e simultaneamente de maneira econômica e sustentável, resulta em um desafio extremamente complexo para a humanidade cuja solução tem como condição essencial a articulação entre diversas áreas das ciências básicas e engenharias, e também a criação de políticas de Estado a curto, médio e longo prazo. A energia do futuro será baseada nas experiências recentes e será o resultado das escolhas realizadas e não do destino (HAMRIN et al., 2007). Dessa forma, os cenários energéticos poderão ajudar nessas tomadas de decisões e avaliações, desde que, os mesmos apresentem uma gama de opções de fontes de energias e incluam também os dados da análise realizada, sendo essas as ferramentas analíticas que irão descrever o nosso abastecimento de energia no futuro.

É apresentada na figura 1, as projeções do consumo de energia nos próximos anos conforme descrito no relatório da *International Energy Outlook 2017*.

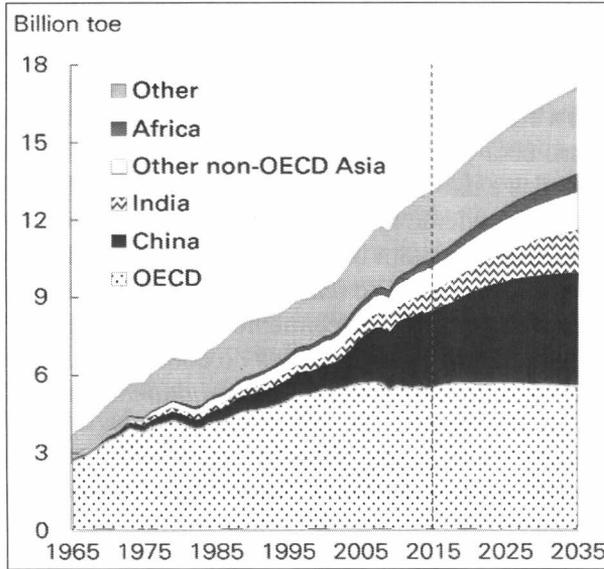
**Figura 1 – Projeção do consumo mundial de energia até 2040, pelos membros e não membros da *Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)***



Fonte: Adaptado de (EIA 2017a).

Haverá um aumento de 28% no consumo de energia em 2040, e a maior parte desse aumento é observado nos países não pertencentes a OECD. Entre 2015 e 2040 a projeção do consumo de energia nesses países aumentará em 41%, em contraste o aumento do consumo de energia para os países membros será de 9%. De acordo com a EIA (2017a) esse aumento é esperado devido a três fatores: forte crescimento econômico; Crescimento rápido da população; e do aumento no acesso à energia comercializada, esse consumo por região pode ser observado na Figura 2.

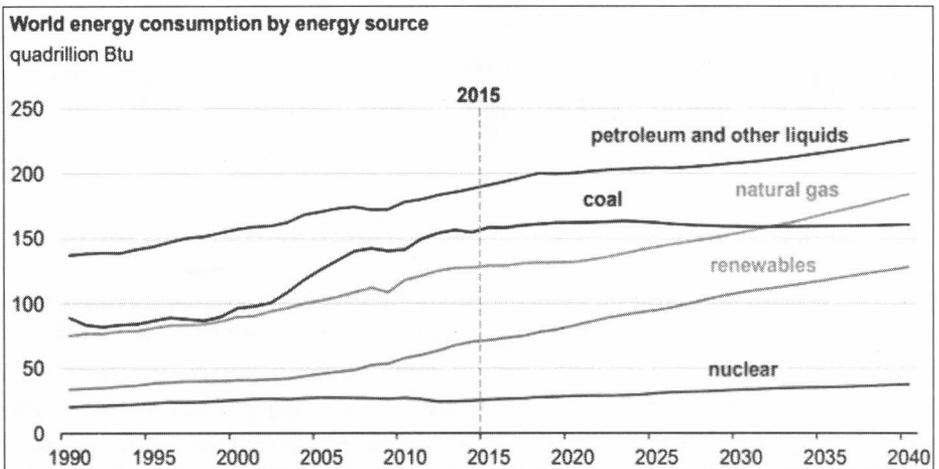
**Figura 2 – Consumo de energia por região**



Fonte: BP (2017).

A partir da análise nas projeções no *Annual Energy Outlook 2017*, se pode antecipar com muita segurança que a matriz energética nos próximos anos apresentará um aumento no consumo de energias renováveis (maior participação), conforme apresentada na Figura 3.

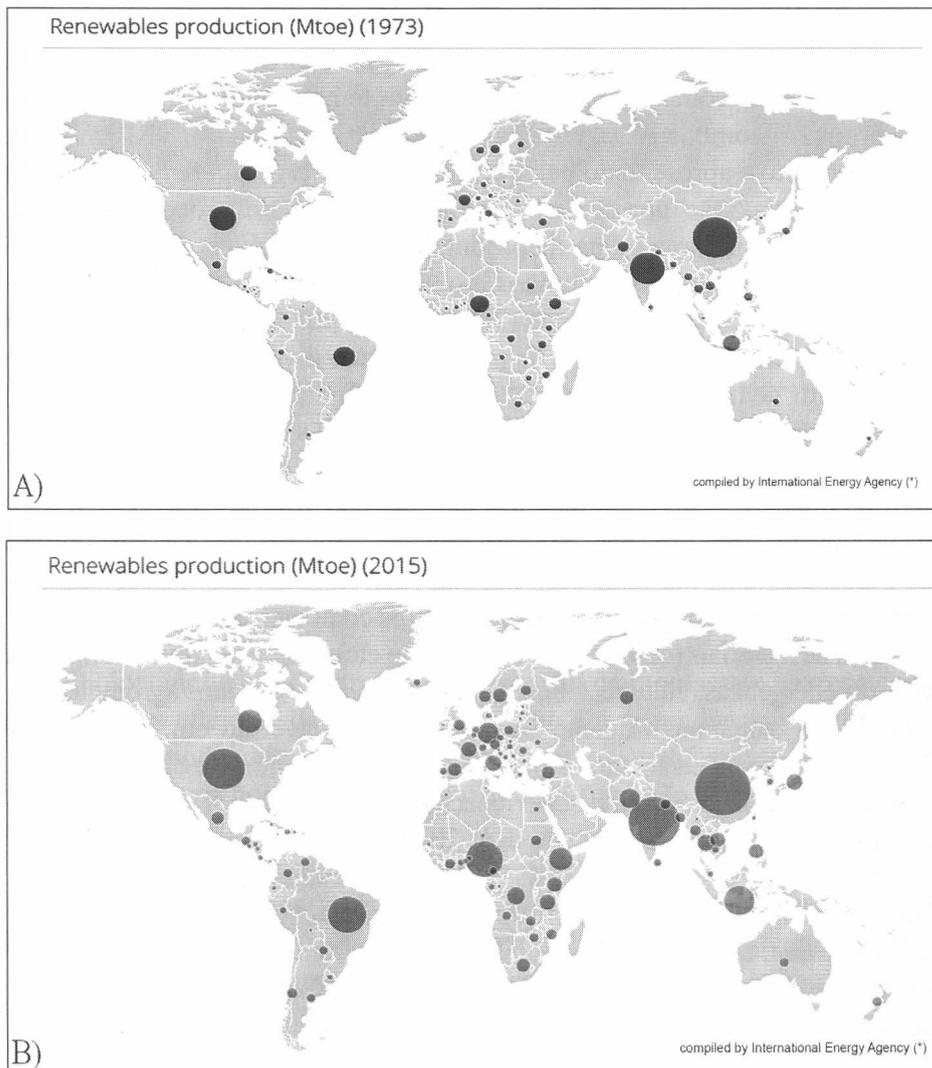
**Figura 3 – Consumo mundial de energia por tipo de fonte, relatório da EIA**



Fonte: Adaptado de (EIA 2017b).

É possível verificar que, ao longo dos últimos 42 anos, a produção de energia alternativa vem crescendo, bem como a contribuição de outros países na geração dessa fonte de energia. A *International Energy Agency* (IEA) apresenta a contribuição dos países na produção de energias alternativas em Mtoe na matriz energética mundial, conforme os atlas de produção de energias renováveis nos anos de 1973 e 2015, figura 4A e 4B.

**Figura 4 – Atlas produção de energias renováveis nos anos de 1975 e 2015**



Fonte: IEA (2017).

## Biorrefinarias

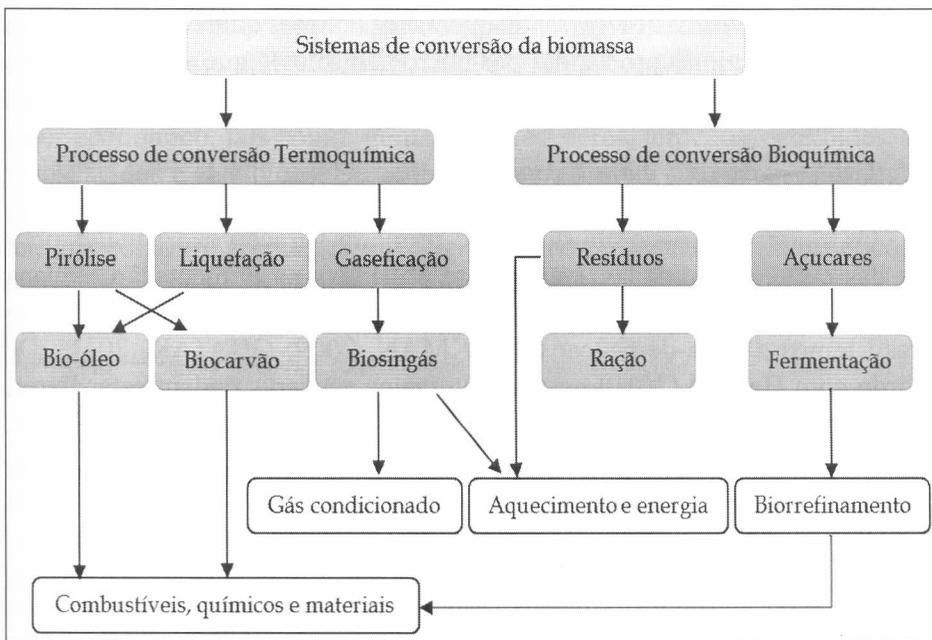
Dentro dessas discussões sobre a questão energética, aprofundada por cenários sobre a escassez das fontes não renováveis e mudanças climáticas Pacheco (2006) apresenta que a tendência é surgir novas pesquisas e estudos técnicos, econômicos e sociais para o desenvolvimento de novas tecnologias para o fornecimento de energias renováveis, tais como: energia eólica e solar, pequenas centrais hidroelétricas, e energia gerada a partir de matéria orgânica, biomassas de origem animal ou vegetal.

A *American National Renewable Energy Laboratory* (NREL), define as biorrefinarias como indústrias que convertem a biomassa e a utilizam para produzir: combustíveis, energia e/ou produtos químicos (NREL, 2008). Outro conceito é apresentado pela *International Energy Agency* (IEA), onde as biorrefinarias são apresentadas como indústrias de processamento de biomassa em uma larga gama de produtos comercializáveis, tais como: alimentos, rações, materiais, químicos e/ou energia (combustíveis, eletricidade, calor) (IEA, 2010). Demirbas (2009a) conceitua as biorrefinarias como indústrias análogas as refinarias de petróleo, onde diversos produtos são obtidos a partir de uma única matriz, conforme a figura 5.

De acordo com Demirbas (2009a) e IEA (2010) a classificação das biorrefinarias é realizada de acordo com o tipo de plataforma utilizada; os tipos de produtos produzidos; matéria-prima utilizada e os processos de conversão. Assim, quanto a plataforma utilizada, as biorrefinarias são agrupadas nas plataformas (C5 e C6); quanto aos tipos de produtos em: Biorrefinarias de produtos energéticos (bioetanol, biodiesel, biohidrogênio e outros combustíveis sintéticos) e biorrefinarias de materiais (químicos, comida, ração etc); quanto ao tipo de biomassa (culturas energéticas, culturas alimentares ou ainda dos resíduos agroindústrias, florestais ou industriais); quanto ao processo de conversão em: bioquímicos (fermentação e conversão enzimática); termoquímicos (pirólise e gaseificação); químicos (hidrólise ácida, transesterificação etc.) e mecânicos (fracionamento, pressão etc.) (DEMIRBAS, 2009b, IEA, 2010).

A NREL (2008) apresenta as principais vantagens das biorrefinarias, sendo elas: produção de diversos produtos; exploração do potencial máximo das biomassas; agregação de valor; aumento da rentabilidade; e redução da demanda energética e da emissão de gases de efeito estufa. Segundo Ghatak (2011) e IEA (2011), essa ampla variedade na produção de diversos produtos tem a vantagem também de diminuir a dependência da produção de um único produto, bem como aumentar a sustentabilidade no uso racional da biomassa, evitando ou reduzindo a competição existente entre o dessa, para a produção alimentos ou combustíveis.

**Figura 5 – Diagrama esquemático do conceito de uma biorefinaria a partir de uma biomassa em diferentes rotas de conversão**



Fonte: Adaptado de (Demirbas 2009).

## Biorrefinarias de bioetanol

### A. Matérias-primas

O bioetanol é obtido através da conversão da biomassa e aparece como uma maneira eficiente de reduzir o consumo e a dependência de combustíveis fósseis, podendo ser utilizado como aditivo ou substituto da gasolina. Por estes motivos hoje o bioetanol é o combustível não fóssil mais utilizado no mundo (DEMIRBAS, 2009c).

As principais rotas para síntese de bioetanol são agrupadas de acordo com a biomassa, sendo denominados de Bioetanol de primeira geração (Fermentação de biomassa sacarina/amilácea); bioetanol de segunda geração (Fermentação da biomassa lignocelulósica) e Bioetanol de terceira geração (Fermentação da biomassa de micro e macroalgas).

Nesse contexto, as biomassas (fontes sacarinas) no processo de conversão não necessitam ser hidrolisadas pois apresentam monossacarídeos fermentescíveis (açúcares redutores), contudo, as outras biomassas (amiláceas e lignocelulósicas) necessitam de um pré-tratamento para a liberação desses açúcares, e

esse processo é denominado de hidrólise (IEA, 2011). O processo de hidrólise de acordo com Lima (2001) e IEA (2011) pode ser realizado por via química (hidrólise ácida e/ou básica – visando quebrar as ligações químicas), enzimática (realizada por enzimas produzidas por microrganismos – que atuarão sobre as ligações químicas) e físicas (explosão por vapor, micro-ondas, ultrassom etc).

### *A.1. Fontes sacarinas e amiláceas*

Os chamados biocombustíveis de primeira geração são aqueles obtidos das culturas dedicadas, usualmente utilizadas na alimentação humana e animal. Nos Estados Unidos a principal cultura dedicada é o milho, no Brasil temos a cana-de-açúcar (HOEKMAN, 2009; GHATAK, 2011). De acordo com Halford (2010) nessas culturas os açúcares podem estar livres, por exemplo na cana-de-açúcar e beterraba sacarina; ou parcialmente livres, na forma de amido (polímero de glicose, que a plantas sintetizam para armazenar energia), como exemplo o milho, a mandioca e a batata. A energia da biomassa é uma fonte promissora de energia renovável, mas a matéria-prima utilizada para produzi-la deve vir de culturas não alimentares ou de resíduos agrícolas e/ou agroindustriais (matérias-primas de segunda geração), para evitar a concorrência com fontes de alimento e terras aráveis.

### *A.2. Fontes lignocelulósicas*

A segunda geração de biocombustíveis utiliza principalmente materiais lignocelulósicos para a produção de combustíveis líquidos (etanol e butanol) ou combustíveis gasosos (hidrogênio ou metano) (DATAR et al., 2007). Essa matéria-prima pode ser derivada de: ecossistemas florestal e aquático; culturas (gramíneas perenes); e de resíduos agroindústrias e industriais (SIMS, 2011; IEA, 2011).

Para a obtenção do bioetanol, neste caso é necessário que a celulose e hemicelulose sejam convertidas em açúcares fermentescíveis, seja por ação química, biológica ou física (IEA, 2011). A celulose é rica em açúcares fermentescíveis, em sua maioria a glicose, contudo a fração de hemicelulose é composta também por pentoses (xilose e arabinose) as quais não são fermentadas pelos organismos usualmente utilizados na indústria de biocombustíveis (RAGAUSKAS, 2006). Desse modo, fica evidente que as biorrefinarias a partir de materiais lignocelulósicos usam um *mix* de fontes de biomassa para a produção de uma série de produtos por meio de combinação de tecnologias, a partir das três frações básicas: hemicelulose, celulose e lignina (SANTOS et al., 2011), por conversão termoquímica e fermentação de açúcares (PEREIRA JR et al., 2008).

A conversão da biomassa lignocelulósica por processo termoquímico inclui os processos de pirólise, gaseificação e liquefação, todos esses processos finalizam com a produção de biocombustíveis renováveis e produtos químicos diversos (DEMIRBAS, 2009a). No processo de conversão dessa biomassa em biocombustíveis, são gerados produtos secundários com alto valor econômico, tais como: gomas, resinas, ceras, terpenos, esteroides, taninos, ácidos e alcaloides. De acordo com Naik et al. (2010) esses produtos secundários podem ser utilizados para a produção de químicos com alto valor, tais como: flavorizantes, rações, produtos farmacêuticos, cosméticos e nutracêuticos, usando técnicas de processamento integrado.

### ***A.3. Biomassa aquática***

As mais recentes tecnologias para obtenção de biocombustíveis, chamados de terceira geração, utilizam como matérias-primas, fontes antes nunca exploradas, como exemplo, as microalgas. As microalgas são consideradas um dos organismos mais antigos do planeta, estão dispersos em quase toda sua superfície, nos mais diversos ambientes e nas mais diversas condições e elas apresentam três mecanismos para o seu crescimento: fotoautófico, heterotrófico e mixotrófico (MATA, 2010).

Com esses mecanismos, as microalgas e macroalgas podem fixar o carbono e produzir tanto lipídeos, quanto açúcares. Essa biomassa é rica em proteínas, e esse conjunto de características faz com que essas possam vir a ser utilizadas como fontes para fermentação e consequente produção de bioetanol, biodiesel, biohidrogênio entre outros (SINGH; GU, 2010). O uso dessa biomassa de acordo com Ghatak (2011) desperta atenção, pois em teoria o uso de microalgas não compete com a disponibilidade das *commodities* alimentares e é uma fonte sustentável. Diversos produtos podem e devem ter sua produção explorada nestas biorrefinarias, estes podem ser: químicos (adesivos, detergentes, tintas, lubrificantes, ácidos etc.), materiais (fibras, papel, gomas etc.) ou alimentícios (rações, glúten etc.) (GHATAK, 2011).

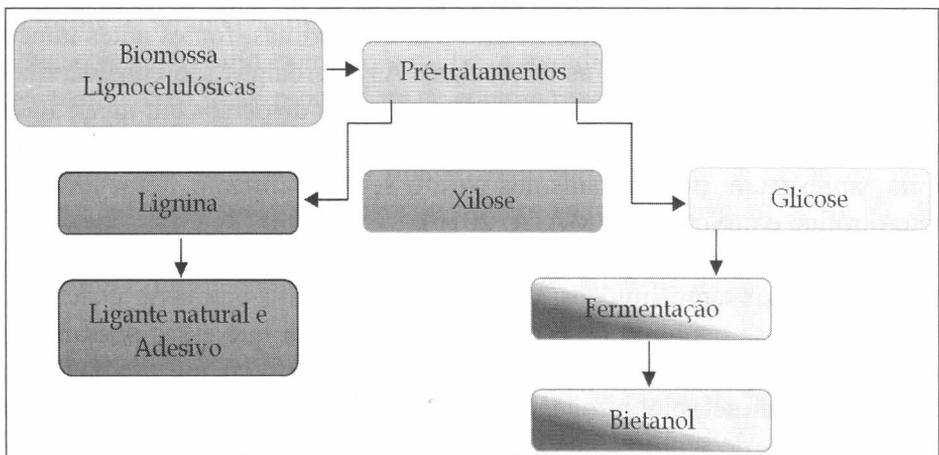
### ***B. Produção de Bioetanol a partir de biomassa lignocelulósica***

Hill et al. (2006) destacam que, para um biocombustível ser uma alternativa viável, esse deve proporcionar um ganho líquido de energia, benefícios ambientais, que seja economicamente competitivo e ser reproduzível em grandes quantidades sem redução do fornecimento de alimentos.

Um fator importante para vencer os obstáculos que impedem a produção rentável do bioetanol a partir de lignocelulose seria melhorar a tecnologia na fase de pré-tratamento que tem o objetivo de solubilizar a hemicelulose (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Embora existam inúmeras tecnologias de pré-tratamento essa etapa tornou-se o maior componente de custo do processo de obtenção do bioetanol (MOSIER et al., 2005, KIM; HONG, 2001).

A conversão das unidades da biomassa para combustíveis líquidos tais como o etanol requer um número de operações unitárias básicas, incluindo pré-tratamento (hidrólise), fermentação e recuperação do etanol. Na Figura 6 é apresentada as operações unitárias básicas para a conversão de biomassa lignocelulósica a bioetanol.

**Figura 6 – Operações unitárias para a obtenção de álcool a partir de biomassa lignocelulósica**



Fonte: Adaptado de (NAIK et al. 2010).

### ***B.1. Uso da biomassa lignocelulósica para produção de outros biocombustíveis***

O material lignocelulósico, pode ser convertido em diversos materiais e químicos, além da produção de etanol. Os principais produtos obtidos são fibras, plásticos sintéticos, borracha e papel. Além de diversos gases obtidos pelo processo de gaseificação (DEMIRBAS, 2009b). De acordo com Sedlmeyer (2011), xilanas podem ser obtidas dessa biomassa residual a aplicação deste químico é reconhecida na indústria de alimentos, novos materiais e na biotecnologia.

## ***B.2. Produção de biohidrogênio (BioH<sub>2</sub>)***

Em geral, existem duas formas para produção de bioH<sub>2</sub>: utilizando organismos vivos fotossintéticos (bactérias fotossintéticas, cianobactérias e algas verdes); e, por organismos fermentativos (anaeróbios estritos e anaeróbios facultativos) (KUMAR et al., 2000).

Kumar e Das (2001) relata que os processos que utilizam microrganismos fermentativos necessitam de melhoras significativas para a sua exploração comercial e que a taxa de produção de hidrogênio utilizando podem ser melhoradas através do desenvolvimento de estirpes microbianas e também por melhoria na densidade celular pela imobilização das células. Entretanto, o principal obstáculo para a comercialização de bioH<sub>2</sub> é o alto custo de produção, havendo a necessidade de chegar a estratégias que podem torná-lo economicamente mais viável (CHENG et al., 2011).

Das e Veziroğlum (2001) relacionam os processos de produção de bioH<sub>2</sub> em: Biofotólise da água usando algas e cianobactérias; foto decomposição de compostos orgânicos por bactérias fotossintéticas; produção fermentativa de hidrogênio a partir de compostos orgânicos; e sistemas híbridos usando fermentação e bactérias fotossintéticas.

## ***B.3. Produção de Metano***

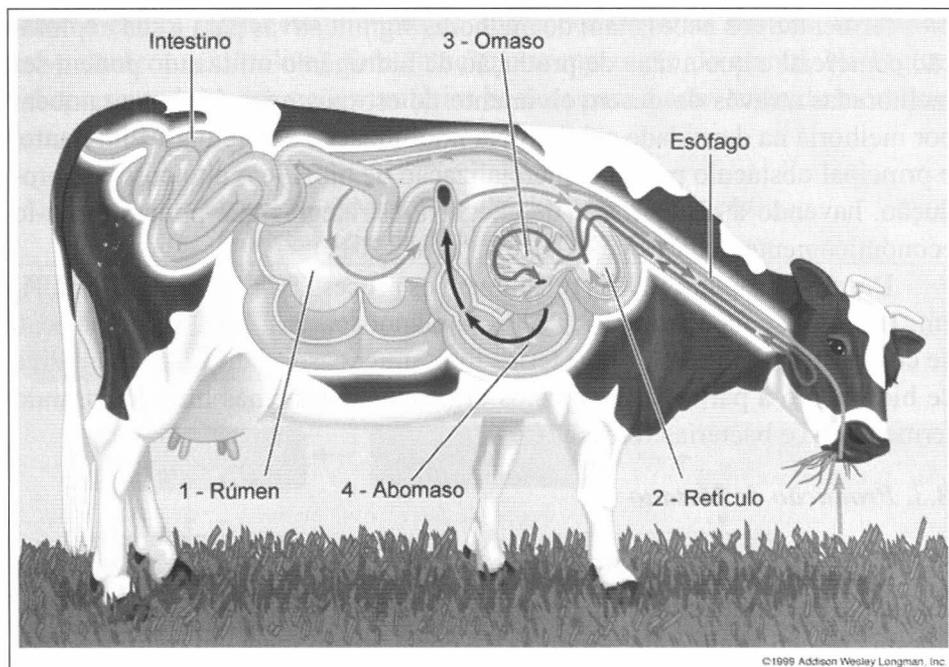
Segundo Chandra et al. (2012) a produção de metano a partir de uma variedade de resíduos biológicos através da tecnologia de digestão anaeróbica está crescendo em todo o mundo e é considerado ideal em muitos aspectos, por causa de seus benefícios econômicos e ambientais. Dois dos fatores mais importantes a serem considerados quando da aplicação de fermentação do material lignocelulósico para a produção de metano são: a velocidade e a biodegradabilidade do material, os quais demonstram que quanto mais rápido for a degradabilidade da biomassa menor o tamanho do reator para a reação e conseqüentemente menor o custo, tornando dessa forma o processo economicamente mais atrativo. Ambos os fatores são funções das propriedades intrínsecas do material lignocelulósico em si e dos microrganismos envolvidos (TONG et al., 1990).

Segundo Naik et al. (2010) ao utilizar resíduos de biomassa lignocelulósica através do processo de digestão anaeróbica haverá a geração de combustível líquido e biofertilizante para produção agrícola.

## Rúmen Bovino

O sistema digestivo dos animais ruminantes (bovinos, equinos, ovinos e caprinos) apresenta estômago com quatro câmaras ou compartimentos (Figura 7) denominados de rúmen, retículo, omaso e abomaso.

**Figura 7 – Sistema digestivo bovino**



©1999 Addison Wesley Longman, Inc.

Fonte: Lesnau (2013).

De acordo com Santos (2008) as três primeiras câmaras, também chamadas de pré-estômagos, têm a função de armazenar o material ingerido e parcialmente digerido, sendo que somente o abomaso, última câmara, tem a função de digestão dos alimentos, função essa equivalente ao estômago simples da maioria dos outros animais. De acordo com Czerkawski (1986) no processo de ruminação, uma porção do sólido digerido no abomaso é regurgitada e o bolo é misturado com saliva e mastigado pelo animal, sendo que esse processo pode ocupar até oito horas por dia. Durante a ruminação do sólido, a massa parcialmente digerida é misturada com saliva e comprimida. O líquido comprimido é engolido, com parte sendo arrastada do retículo para o rúmen e parte passando para o Omaso e então indo para o intestino. Por isso, o rúmen funciona como um grande “depósito” no qual os alimentos semidigeridos ficam armazenados e são fermentados. Alguns produtos simples provenientes

da fermentação que ocorre no rúmen são absorvidos diretamente, enquanto outros precisam ser digeridos no abomaso (DYCE et al., 2004).

O rúmen contém uma das mais variadas e densas populações microbianas conhecidas na natureza. O ecossistema microbiano é amplamente diversificado, sendo constituído de bactérias, protozoários ciliados, fungos anaeróbicos e bacteriófagos, além de microrganismos não cultiváveis, um ecossistema estável e ao mesmo tempo dinâmico, estável porque é bem estabelecido e capaz de transformar o alimento ingerido pelo animal em ácidos graxo voláteis, e dinâmico porque a população microbiana pode ser alterada com a mudança da alimentação animal, numa forma de se adaptar aos novos ingredientes alimentares (KAMRA, 2005).

No Brasil, o rúmen, como alimento humano, é utilizado no preparo do prato conhecido como dobradinha ou buchada. Sabe-se que parte do rúmen obtido no abate dos animais é voltado ao mercado interno, parte voltada ao mercado externo e aqueles abatedouros que possuem tecnologia mais especializada são capazes de transformar o rúmen em ração para os próprios animais. Na Índia, foi realizado um trabalho com “snacks” de rúmen de búfalo com porcentagens diferentes de milho, resultando em boa aceitação sensorial (ANANDH et al., 2005).

Outras formas de aproveitamento do rúmen têm sido desenvolvidas. Foi feito um pedido de patente para utilização do rúmen bovino como adubo em substituição aos compostos orgânicos atualmente utilizados (INPI, 2006). No sul de Minas Gerais também têm sido produzidas botas com couro obtido a partir do rúmen. O rúmen tem sido utilizado de algumas formas, mas quanto à alimentação humana, sua aplicação ainda é limitada (OCKERMAN; HANSEN, 1994).

Algumas aplicações para o Rúmen já são conhecidas, contudo, poucos estudos foram realizados no aproveitamento do conteúdo ruminal biomassa lignocelulósica que é descartada em grandes volumes nos sistemas de tratamento de efluentes das indústrias processadoras). Alternativas seriam a produção de biocombustíveis de segunda geração e a prospecção de microrganismos produtores de celulase, devido a ampla diversidade microbiana.

## **Microrganismos Celulolíticos**

Os microrganismos vêm sendo utilizados na produção de enzimas hidrolíticas com o objetivo de aumentar o aproveitamento de matérias-primas lignocelulósicas, porém uma das maiores barreiras tecnológicas é o alto custo das enzimas utilizadas para a hidrólise do material e sua baixa eficiência (WYMAN, 2007). De acordo com Marquéz et al. (2010) há a necessidade de descoberta de novas espécies de microrganismos capazes de hidrolisar a fibra vegetal ou o melhoramento das enzimas já existentes por meio de otimização de processos.

## A) Microrganismos associados ao rúmen bovino

Apesar da disponibilidade de dados sobre a taxonomia, ecologia e fisiologia dos microrganismos ruminais, em especial as bactérias, a microbiota do rúmen, por ser um ambiente complexo, ainda necessita de muitos estudos para que seu ecossistema possa ser melhor compreendido (KOBAYASHI, 2006). Esses microrganismos são, em sua maioria, microrganismos termófilos (temperatura ótima entre 39°C e 40°C), adaptados para sobrevivência em anaerobiose e em meio com variação de pH entre 5,5 e 7,0. A microbiota ruminal é composta por fungos, bactérias, *Archaea* e protozoários, porém as bactérias são as mais abundantes e diversas, compondo cerca de 95% da população total (KOBAYASHI, 2006; BRULC et al., 2009).

### A.1) Bactérias

No rúmen bovino as bactérias se apresenta tanto em maior número de espécies quanto em capacidade metabólica, com tamanho que variam de 1 a 5 µm. A densidade de bactérias no rúmen é uma das maiores em qualquer ecossistema conhecido (ARCURI et al., 2006 *apud* SIQUEIRA, 2007), podendo ser observados valores na grandeza de até 10<sup>10</sup> células/g de conteúdo. Krause e Russel (1996) relata que o número de espécies ruminais não é totalmente conhecida, porém mais de 400 já foram isoladas a partir dos tratos digestórios de diferentes animais (ARCURI et al., 2006).

A grande diversidade bacteriana do rúmen pode ser entendida observando os seguintes aspectos: Possuem elevada atividade metabólica com baixo tempo de geração; Diversidade de nutrientes ingerida pelo animal hospedeiro; Evolução e a seleção de espécies mais adaptadas para o máximo rendimento bioquímico; Repetição desse “ciclo virtuoso”, uma vez que a espécie melhor adaptada supera todas as outras na competição por um nicho trófico, criando dessa forma novas oportunidades para outras espécies. Na tabela 1 são apresentadas algumas espécies de bactérias e *Archaea* do rúmen, nicho trófico e principais características de acordo com Arcuri (2006 *apud* SIQUEIRA, 2007).

**Tabela 1 – Nichos tróficos e principais produtos de espécies bacterianas e *Archaea***

Espécie	Nichos Tróficos	Principais Produtos
<i>Ruminococcus albus</i>	PC, Cel	Ac, Fo, Et
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	PC, Cel, Hemicel	Bu, Fo, Lac
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	PC, Cel, Hemicel, Am, Pec, AD	Lac, Ac
Fermentadores de carboidratos não estruturais		
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	Am	Su, Fo, Ac

continuação

<b>Espécie</b>	<b>Nichos Tróficos</b>	<b>Principais Produtos</b>
<i>Selenomonas ruminantium</i>	Am, Lac, AD	Lac, Ac, Prop, Bu, H <sub>2</sub>
<i>Streptococcus bovis</i>	Am, AD	La, Ac, Fo, Et
<i>Eubacterium ruminantium</i>	Mal, AD	Ac, Fo, Bu, La
<i>Megasphaera elsdenii</i>	La, Mal, AA	Ac, Pro, Bu, AGVR
<b>Organismos fermentadores de pectinas</b>		
<i>Lacnospira multiparus</i>	Pec, AD	La, Ac, Fo
<b>Lipolíticos</b>		
<i>Anaerovibrios lipolytica</i>	Glic, La	Ac, Su, Pro
<b>Proteolíticos</b>		
<i>Peptostreptococcus sp.</i>	Pep, AA	AGVR, Ac
<i>Clostridium aminophilum</i>	Pep, AA	Ac, Bu
<i>Wolinella succinogenes</i>	Mal, Fu	Su
<b>Facultativos</b>		
<i>Lactobacilus sp</i>	Am, La, AD	La, Ac, Pro, Bu, H <sub>2</sub>
<i>Streptococcus sp</i>	Am, La, AD	La, Ac, Pro, Bu, H <sub>2</sub>
<b>Archaea (metanogênicos)</b>		
<i>Methanobrevibacter sp.</i>	H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , Fo	CH <sub>4</sub>
<i>Methanobacterium sp.</i>	H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>

PC – Parede celular; Cel – Celulose; Hemicel – Hemicelulose; Am – Amido; Pec – Pectina; Su – Succinato; Fo – Formato; Ac – Acetato; Bu – Butirato; Et – Etanol; Lac – Lactato; AGVR – Ácidos graxos voláteis de cadeia ramificada; AD – Açúcares diversos; Glic – Glicerol; Pep – Peptídeos; AA – Aminoácidos; Mal – Maltodextrina; Fu – Fumarato.

Segundo Krause et al. (2003), que cita diversos autores em seu trabalho, as principais espécies celulolíticas são *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus* e *Fibrobacter succinogenes*. Estas hidrolizam celulose por meio de complexos enzimáticos denominados celulases. As celulases da maioria dos microrganismos celulolíticos, estão associadas às células, aderidas firmemente às partículas fibrosas do conteúdo ruminal. Outra espécie importante segundo Arcuri et al. (2006) é a *Butirivibrio fibrosolvens*, que fermenta tanto celulose quanto hemicelulose, enquanto outras bactérias celulolíticas degradam a hemicelulose, mas não necessariamente utilizam os produtos dessa degradação.

## A.2) Fungos

A grande maioria dos fungos são aeróbios, porém alguns bolores anaeróbios foram isolados, sendo eles: *Neocallimastix frontalis*, *Neocallimastix patriciarium*, *Piromonas communis*, *Sphaeromonas communis*, *Caecomyces equi*, os fungos representam apenas 8% biomassa microbiana (RUIZ, 1992).

## Aproveitamento Biotecnológico

Para que a biomassa lignocelulósica seja utilizada, são necessários tratamentos que liberam seus açúcares monoméricos, para que então passem por fermentação biológica. Os principais passos da produção são: pré-tratamento (por processos físicos ou químicos) que libera as hexoses e pentoses da hemicelulose; tratamento enzimático (ou hidrólise química) que libera a glicose da celulose (ZALDIVAR et al., 2001).

No entanto, a dificuldade em se superar a resistência natural das plantas a quebra de seus açúcares por fontes biológicas tem tornado o processo muito caro para que seja economicamente viável (WYMAN, 2007). A presença de lignina dificulta ainda mais o processo, uma vez que ela forma uma barreira em torno das fibras de celulose e ainda possui afinidade por uma boa porção das celulasas, se ligando a elas e impedindo a sua ação (JØRGENSEN et al., 2007).

Os ruminantes são alguns dos poucos animais capazes de digerir a fibra vegetal e utilizá-la como fonte energética devido a sua relação simbiótica com os microrganismos presentes no rúmen (WANG et al., 2012). Acredita-se que o curto período de tempo disponível para a execução dos diversos processos fermentativos e hidrolíticos impostos pelo trânsito contínuo de biomassa pelo trato digestivo, o ambiente anaeróbico e as baixas quantidades de enzimas hidrolíticas produzidas criaram uma pressão seletiva que transformou os microrganismos ruminais nos biorreatores consumidores de material lignocelulósico mais eficientes e naturais existentes (KOIKE; KOBAYASHI, 2009).

### A) Pré-tratamentos

Os pré-tratamentos consistem em uma série de operações que aplicadas aos materiais lignocelulósicos, são capazes de quebrar as ligações que unem as macroestruturas com o objetivo de separar a lignina das fibras de celulose e hemicelulose tornando-as mais acessíveis para a ação das enzimas microbianas nos processos de sacarificação e fermentação. Os pré-tratamentos podem ser classificados em quatro categorias: físico, químico, biológico e combinado.

Segundo Lynd (1996) um pré-tratamento ideal é aquele que produz fibras reativas, preserva a utilidade da fração hemicelulósica e não libera compostos que inibam significativamente a fermentação. Os processos mais utilizados para o pré-tratamento da biomassa lignocelulósica se dividem em físicos (Explosão a vapor e Termohidrólise); Químicos (Hidrólise ácida, hidrólise alcalina e ORGANOSOLV); biológicos (microrganismos) e combinados (Explosão de vapor catalisada).

## **Considerações finais**

Com a crescente demanda no consumo de energia, aliada com a necessidade de desenvolvimento de novas fontes de energia, principalmente as não renováveis, fica bem evidente a importância em prospectar novas matérias-primas para a produção de energia, sendo essa biomassa ainda pouco explorada, mas gerada em grandes quantidades, apresentando essa, como uma potencial matéria-prima para esse fim.

## **Perspectivas futuras**

Consolidar essa biomassa lignocelulósica residual, como matéria-prima no processo de produção de biocombustíveis e de outros materiais, aplicando o conceito de biorrefinaria.

Bioprospetar novos microrganismos capazes de produzir enzimas hidrolíticas, bem como otimizar os processos de produção desses complexos enzimáticos para diversas aplicações biotecnológicas.

## REFERÊNCIAS

- AGUILAR, M. I. et al. Nutrient removal and sludge production in the coagulation flocculation process. **Water Research**, v. 36, n. 11, p. 2910-2919, 2002.
- ANANDH, M. A. et al. Development and quality characteristics of extruded tripe snack food from buffalo rumen meat and corn flour. **Journal Food Science and Technology**, v. 42, n. 3, p. 263-267, 2005.
- ARCURI, P. B.; LOPES, F. C. F.; CARNEIRO, J. C. Microbiologia do rúmen. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Org.). **Nutrição de ruminantes**. 1.ed. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 111-150.
- BP p. l.c., BP Energy Outlook 2017 edition, London, United Kingdom, 2017. Disponível em: <<https://www.bp.com/content/dam/bp/pdf/energy-economics/energy-outlook-2017/bp-energy-outlook-2017.pdf>>. Acesso em: 11 de nov de 2017.
- BRULC, J. M. et al. Gene-centric metagenomics of the fiber adherent bovine rumen microbiome reveals forage specific glycoside hydrolases. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 6, p. 1948-1953, 2009.
- CARDONA, C. A.; SÁNCHEZ, O. J. Fuel ethanol production: process design trends and integration opportunities. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 12, p. 2415-2457, 2007.
- CHANDRA, R.; TAKEUCHI, H.; HASEGAWA, T. Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 3, p. 1462-1476, 2012.
- CHENG, C. et al. Biohydrogen production from lignocellulosic feedstock. **Bioresource Technology**, v. 12, n. 18, p. 8514-8523, 2011.
- CZERKAWSKI, J. W. **An introduction to rumen studies**. 1 ed. Oxford: Pergamon Press, 1986. 236 p.

DAS, D.; VEZIROĞLUM, T. N. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 26, n. 1, p. 13-28, 2001.

DATAR, R. et al. Hydrogen production from the fermentation of corn stover biomass pretreated with a steam-explosion process, **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 8, p. 932-939, 2007.

DEMIRBAS, A. Biorefineries: Current activities and future developments. **Energy Conversion and Management**, v. 50, n. 11, p. 2782-2801, 2009a.

DEMIRBAS, A.; DEMIRBAS, M. F. Importance of algae oil as a source of biodiesel. **Energy Conversion and Management**, v. 52, n. 1, p. 163-170, 2011.

DEMIRBAS, M. F. Biorefineries for biofuel upgrading: A critical review. **Applied Energy**, v. 86, s.1, p. 151-161, 2009b.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3. ed. Traduzida. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 688 p.

EIA – Energy Information Administration. International Energy Outlook 2017. Disponível em: <[https://www.eia.gov/outlooks/ieo/pdf/0484\(2017\).pdf](https://www.eia.gov/outlooks/ieo/pdf/0484(2017).pdf)>. Acesso em: 11 nov. 2017a.

EIA – Energy Information Administration. Annuals Energy Outlook 2017 with projections to 2050. Disponível em: <[https://www.eia.gov/outlooks/aeo/pdf/0383\(2017\).pdf](https://www.eia.gov/outlooks/aeo/pdf/0383(2017).pdf)>. Acesso em: 11 nov. 2017b.

FURLAN, V. J. M. **Produção de bioetanol a partir de resíduos celulósicos da agroindústria do arroz**. 2009. 90 f., Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.

GHATAK, H. R. Biorefineries from the perspective of sustainability: Feedstocks, products, and processes. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 8, p. 4042-4052, 2011.

HALFORD, N. G. et al. Sugars in crop plants. **Annals of Applied Biology**, v. 158, n. 1, p. 1-25, 2010.

HAMRIN, J.; HUMMEL, H.; CANAPA, R. **Review of the role of renewable energy in global energy scenarios for the International Energy Agency Implementing Agreement on Renewable Energy Technology Deployment**, 2007. 85 p. Disponível em: <<http://infohouse.p2ric.org/ref/42/41014.pdf>>. Acesso em: 15 jan 2017.

HENDRIKS, A. T.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 10-18, 2009.

HILL, J. et al. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. **Proceedings National Academy Science**, v. 103, n. 3, p. 11206-11210, 2006.

HOEKMAN, S.K.; Biofuels in the U.S.: Challenges and opportunities. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 34, p. 14-22, 2009.

IEA, International Energy Agency. **Technology Roadmaps: Biofuels for transport**. p. 56. 2011. Task 42 Biorefinery. Disponível em: <<http://www.iea-bioenergy.task42-biorefineries.com/en/ieabiorefinery.htm>>. Acesso em: 22 maio 2017.

IEA, International Energy Agency. Disponível em: <<http://www.iea.gov>>. Acesso em: 11 nov. 2017.

IEA, International Energy Agency. **Sustainable Production of Second-Generation Biofuels: Potential and perspectives in major economies and developing countries**. 2010. Disponível em: <[https://www.iea.org/publications/freepublications/publication/second\\_generation\\_biofuels.pdf](https://www.iea.org/publications/freepublications/publication/second_generation_biofuels.pdf)>. Acesso em: 15 jan. 2017.

IEA, International Energy Agency. **Technology Roadmaps: Biofuels for transport**. 2011. International Energy Agency Bioenergy. Task 42 Biorefinery. Disponível em: <<http://www.iea-bioenergy.task42-biorefineries.com/en/iea-biorefinery.htm>>. Acesso 22 mai 2017.

INGRAM, L. O., DORAN, J. B. Conversion of cellulosic materials to ethanol. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 16, n. 2-3, p. 235-241, 1995.

INPI, Instituto Nacional de Propriedade Industrial. Utilização de rúmen do aparelho digestivo de ruminantes no processo do hidrosemeadura. Brasília, 2006.

JØRGENSEN, H.; KRISTENSEN, J. B.; FELBY, C. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 1, n. 2, p. 119-134, 2007.

KAMRA, D. N. Rumen microbial ecosystem. **Current Science**, v. 89, n. 1, p. 124-134, 2005.

KIM, K. H.; HONG, J. Supercritical CO<sub>2</sub> pretreatment of lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 2, p. 139-144, 2001.

KOBAYASHI, Y. Inclusion of novel bacteria in rumen microbiology: Need for basic and applied science. **Animal Science Journal**, v. 77, n. 4, p. 375-385, 2006.

KOIKE, S.; KOBAYASHI, Y. Fibrolytic Rumen Bacteria: Their Ecology and Functions. **Journal of Animal Science**, v. 22, n.1, p. 131-138, 2009.

KRAUSE, D.O. et al. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 5, p. 663-693, 2003.

KRAUSE, D.O.; RUSSEL, J.B. How many ruminal bacteria are there? **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 8, p. 1467-1475, 1996.

KUMAR, N.; DAS, D. Continuous hydrogen production by immobilized *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08 using lignocellulosic materials as solid matrices. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 29, n. 4-5, p. 280-287, 2001.

KUMAR, N. et al. Modeling and simulation of clean fuel production by *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 25, p. 945-952, 2000.

LEITÃO, V. O. **Caracterização de uma bactéria anaeróbica termofílica isolada do rúmen de caprino e análise das enzimas do seu complexo celulolítico**. 99 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, 2015.

LESNAU, G. Aparalho digestório 2. **Anatomia veterinária**. Disponível em: <<http://anatomiaanimaldescritiva.blogspot.com.br/2013/08/aparelho-digestorio-2.html>>. Acesso em: 11 nov. 2017.

LIMA, U. A. de; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. de. Produção de Etanol. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. 1. ed. v. 3, São Paulo: Editora Edgard Blucher, 2001. 616p.

LYND, L. R. Overview and Evaluation of Fuel Ethanol from Cellulosic Biomass: Technology, Economics, the Environment, and Policy. **Annual Review of Energy and the Environment**, v. 21, p. 403-465, 1996.

MÁRQUEZ, A. et al. Biotechnological potential of pectinolytic complexes of fungi. **Biotechnology Letters**, v. 33, n. 5, p. 859-868, 2011.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S.; Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 17-32, 2010.

MENON, V.; RAO, M. Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. **Progress in Energy and Combustion Science**. v. 38, n. 4, p. 522-550, 2012.

MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 6, p. 673-686, 2005.

NAIK, S. N. et al. Production of first and second-generation biofuels: A comprehensive review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 578-597, 2010.

NATIONAL Renewable Energy Laboratory (NREL) 2008. Disponível em: <<http://www.nrel.gov/>>. Acesso 20 mai 2017.

OCKERMAN, H.W.; HANSEN, C.L. **Industrialización de subproductos de origen animal**. 1. ed. Zaragoza: Editora Acribia, 1994. 387 p.

OSAKI, M.R.; SELAN, B.; SELEGHIM JR., P. **Cenários e perspectivas no desenvolvimento fontes renováveis de energia no brasil**. Relatório de Estudos de Economias de Baixo Carbono (EBC), 2012. 26 p.

PACHECO, F. **Energias renováveis: breves conceitos**. Conjuntura e Planejamento, Salvador: SEI, n. 149, 2006. p. 4-11

PEREIRA JUNIOR, N.; et al. **Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery**. In Series on Biotechnology, Rio de Janeiro: Ed. Amiga Digital UFRJ, v.2, 2008. 45 p.

RAGAUSKAS, A. J. et al. The path forward for biofuels and biomaterials. **Science**, v. 311, n. 5760, p. 484-489, 2006.

RUIZ, R. L. **Microbiologia zootécnica**. 1. ed. São Paulo: Ed. Roca, 1992. 314p.

SANTOS, L. C. **Desenvolvimento de papilas ruminais**. PUBVET, v. 2, n. 40, 2008.

SANTOS, M. F. R. F. dos; BORSCHIVER, S.; COUTO, M. A. P. G. S. Iniciativas para o uso da biomassa lignocelulósica em biorrefinarias: a plataforma sucroquímica no mundo e no Brasil. **Revista Economia & Energia**, n. 82, p. 14-32, 2012.

SEDLMEYER, F. B. Xylan as by-product of biorefineries: Characteristics and potential use for food applications. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1891-1898, 2011.

SILVA, N. L. C. **Produção de bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose**. 2010, 109 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ.

SIMS, R. E. H. et al. An overview of second-generation biofuel technologies. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 6, p. 1570-1580, 2010.

SINGH, J.; GU, S.; Commercialization potential of microalgae for biofuels production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 9, p. 2596-2610, 2010.

SIQUEIRA, Guilherme. **Benko de Energia e Proteína na nutrição de ruminantes** [livro eletrônico] Universidade Federal do Tocantins: Palmas, 2007. 2,19 MB ; ePUB. il. tab.

TONG, X.; SMITH, L. H.; MCCARTY, P. L. Methane fermentation of selected lignocellulosic materials. **Biomass**, v. 21, n. 4, p. 239-255, 1990.

WANG, Y. et al. Effect of Exogenous Fibrolytic Enzyme Application on the Microbial Attachment and Digestion of Barley Straw In vitro. **Asian – Australian Journal of Animal Science**, v. 25, n. 1, p. 66-74, 2012.

WILLIAMS, A. G. Rumen holotrich ciliate protozoa. **Microbiological Review, Washington**. v. 50, n. 1, p. 25, 1986.

WYMAN, C. E. What is (and is not) vital to advancing cellulosic ethanol. **Trends in Biotechnology**, v. 25, n. 4, p. 153-157, 2007.

ZALDIVAR, J.; NIELSEN, J.; OLSSON, L. Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, n. 1-2, p. 17-34, 2001.

ZHANG, Y. H. P. et al. **Fractionating recalcitrant lignocellulose at modest reaction conditions.** *Biotechnology Bioengineering*. v. 97, n. 2, p. 214-223, 2007.