



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
ESCOLA DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de  
Processos Químicos e Bioquímicos



**LUIZA DO LAGO LINHARES**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE APROVEITAMENTO DO BAGAÇO  
DE MALTE CERVEJEIRO PARA OBTENÇÃO DE XAROPE DE  
GLICOSE**

RIO DE JANEIRO

2018

**Luiza do Lago Linhares**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE APROVEITAMENTO DO BAGAÇO  
DE MALTE CERVEJEIRO PARA OBTENÇÃO DE XAROPE DE  
GLICOSE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadores:

Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto, D.Sc

Thiago Rocha dos Santos Mathias, D.Sc

**EQ/UFRJ  
Rio de Janeiro  
2018**

## Ficha Catalográfica

d755a do Lago Linhares, Luiza  
Avaliação do potencial de aproveitamento do bagaço de malte cervejeiro para obtenção de xarope de glicose / Luiza do Lago Linhares. -- Rio de Janeiro, 2018.  
125 f.

Orientador: Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto.

Coorientador: Thiago Rocha dos Santos Mathias.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2018.

1. Subprodutos. 2. Biorrefinaria. 3. Bagaço de malte. 4. Cervejaria. 5. Pré-tratamento. I. Peixoto Gimenes Couto, Maria Antonieta, orient. II. Rocha dos Santos Mathias, Thiago, coorient. III. Título.

**Luiza do Lago Linhares**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE APROVEITAMENTO DO BAGAÇO DE MALTE  
CERVEJEIRO PARA OBTENÇÃO DE XAROPE DE GLICOSE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovada em 03 de Dezembro de 2018

---

Profa. Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto, D.Sc. (Escola de Química /UFRJ)  
Orientadora

---

Prof. Thiago Rocha dos Santos Mathias, D.Sc. (Tecnologia das Fermentações e Engenharia Bioquímica / IFRJ)  
Co-orientador

---

Elcio Ribeiro Borges, D.Sc (Escola de Química /UFRJ)

---

Veronica Ferreira Melo, D.Sc (Tecnologia das Fermentações e Engenharia Bioquímica / IFRJ)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família por me apoiar e me dar força para atingir os meus objetivos pessoais e profissionais.

Em especial aos meus orientadores, professora Maria Antonieta e professor Thiago Mathias, por me dar todo o suporte para elaboração do trabalho, me guiando de forma compreensiva e objetiva.

Ao laboratório LADETEC, professor Nei Pereira Jr. e Douglas de França Passos, pela disponibilização do laboratório para realizar os experimentos e por toda orientação acadêmica sempre muito prestativa.

Aos meus companheiros de trabalho da Ambev, por me fornecer informações para elaboração do presente estudo e pela as horas oferecidas para realização dos experimentos.

À Escola de Química da UFRJ, por todos esses anos de estudo e conhecimento oferecido pela instituição.

Aos meus amigos, pela compreensão de todo o tempo que me ausentei e por estarem sempre ao meu lado quando precisei.

## RESUMO

LINHARES, Luiza do Lago. **Avaliação do potencial de aproveitamento do bagaço de malte cervejeiro para obtenção de xarope de glicose.** Orientadores: Prof<sup>a</sup>. Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto, D.Sc e Prof. Thiago Rocha dos Santos Mathias, D.Sc. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ; EPQB, 2018. Dissertação (Mestre em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos)

Nos últimos anos, a busca por alternativas sustentáveis e inovadoras para os resíduos industriais tem se tornado importante nos centros de pesquisas de grandes empresas. As cervejarias geram anualmente milhões de toneladas de resíduo orgânico, como o bagaço de malte. Atualmente, esse resíduo é basicamente destinado como ingrediente para elaboração de ração animal. No entanto, tem em sua composição fontes ricas em fibras e proteínas, com potencial de aproveitamento para diversos fins. Como alternativa para a utilização do bagaço de malte visando a produção de um produto com maior valor agregado, a produção de xarope de glicose a partir da celulose do material lignocelulósico foi avaliada no presente trabalho. Para a análise de viabilidade do projeto, foi feito o Estudo de Caso com base na cervejaria Nova Rio (Ambev S.A.), localizada em Campo Grande, Rio de Janeiro, utilizando os dados obtidos em 2017. A produção de xarope de glicose foi avaliada em duas rotas, a Rota A considerando pré-tratamento hidrotérmico antes da hidrólise enzimática para conversão de celulose em glicose, e a Rota B, onde o bagaço *in natura* é submetido à hidrólise enzimática. Os cálculos de incremento na receita atual da cervejaria foram feitos considerando possíveis riscos de mercado, analisou-se o cenário de venda com preços atual do xarope de glicose e o valor de um possível mercado competitivo. Como melhor cenário de investimento, concluiu-se que o processamento do bagaço de malte com tratamento hidrotérmico prévio (Rota A) com ganho em receita anual de R\$ 21,8 milhões e retorno de investimento em 4,3 anos. Apesar de maior custo de capital e operacional, o volume de produção do xarope final, obtido por maior conversão da celulose, representa impacto financeiro mais efetivos. Adicionalmente, foi realizado experimentos, como prova de conceito, em diferentes condições de pré-tratamento hidrotérmico e hidrólise enzimática para conversão da celulose em glicose, matéria-prima para produção do

xarope de glicose. As variáveis de estudos do pré-tratamento hidrotérmico foram relação sólido/ líquido, tempo e temperatura (121°C e 124°C). De acordo com os resultados obtidos, a estrutura cristalina da matriz de composição lignocelulósica do bagaço de malte não é afetada durante o pré-tratamento em nenhuma das condições, apresentando maior concentração de celulose no bagaço *in natura*. Para obter a glicose, o bagaço sem pré-tratamento e a amostra pré-tratada com maior concentração de celulose foram submetidos à hidrólise enzimática. A melhor conversão foi utilizando a celulose do bagaço *in natura* com carga de sólidos de 50 g/L, que obteve eficiências de hidrólise de 40%. Desse modo, o estudo realizado poderá ser útil para o aperfeiçoamento dos projetos acerca de aproveitamento do bagaço de malte no contexto de biorrefinaria.

Palavras chave: xarope de glicose; bagaço de malte; resíduo de cervejaria; biorrefinaria.

## ABSTRACT

LINHARES, Luiza do Lago. **Evaluation of the potential exploitation of brewer's spent grain for glucose syrup production.** Supervisors: Prof<sup>a</sup>. Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto, *D.Sc* and Thiago Rocha dos Santos Mathias, *D.Sc*. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ; EPQB, 2018. Dissertation (Master's Degree in Engineering of Chemical and Biochemical Processes)

Recently, the search for sustainable and innovative alternatives for industrial waste is becoming important in the research centers of big companies. Breweries generate annually million tons of organic waste, as brewer's spent grain (BSG). Currently, this waste is basically designated as animal feed ingredient. However, its composition is rich in fibers and proteins, that could be potentially be exploited for several application. As alternative for the use of BSG aiming the production of a higher value product, the glucose syrup from cellulose of lignocellulosic material was evaluated in this project. For the viability, the Study Case was based on Nova Rio brewery (Ambev S.A.), located in Campo Grande, Rio de Janeiro, using data obtained in 2017. The glucose syrup production was evaluated considering two different routes, the Route A contemplate a hydrothermal pretreatment before the enzymatic hydrolysis for cellulose conversion to glucose, and the Route B, the BSG *in natura* is directly enzymatic hydrolyzed. The additional revenue was calculated considering possible market risks, it was analyzed the scenarios of the actual glucose syrup price and the possible competitive market. The best investment scenario obtained was the exploitation of hydrothermal pretreated BSG (Route A) with an annual saving of R\$ 21,8 million and 4,3 years payback. Although the higher capital and operational costs, the glucose syrup production volume, obtained by higher cellulose conversion, represents more expressive financial impact. Additionally, was performed experiments, for concept proof, in different conditions of hydrothermal pretreatment and enzymatic hydrolysis to conversion of cellulose in glucose, raw material for glucose syrup production. The studied variables of the hydrothermal pretreatment were solid/ liquid ratio, time and temperature. According to obtained results, crystalline structure of the matrix with lignocellulosic composition of BSG was not affected during hydrothermal pretreatment in the conditions studied, showing higher cellulose concentration at *in natura* bagasse. For glucose obtaining, the not



pretreated material and the pretreated sample with higher cellulose concentration was submitted to enzymatic hydrolysis. The best conversion rate result was using BSG *in natura* cellulose with solid load of 50 g/L, with hydrolysis efficiency of 40%. Thus, this study might be useful for project improvement in brewer's spent grain exploitation in biorefinery context.

Key words: glucose syrup; brewer's spent grain; brewery waste; biorefinery.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Avaliação temporal do volume de cerveja produzido no Brasil em milhões de hectolitros .....	23
Figura 2 Ranking dos estados com maior número de cervejarias no Brasil.....	26
Figura 3 Cevada de duas fileiras (two-rows) e seis fileiras (six-rows). .....	27
Figura 4 . Estrutura de (A) Amilose - Cadeia linear e ligações $\alpha$ -(1-4); e (B) Amilopectina - Cadeia ramificada com ligações $\alpha$ -(1-4) e $\alpha$ -(1-6) presentes no amido .....	29
Figura 5 (a) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e (b) <i>Saccharomyces pastorianus</i> por microscópico eletrônico de varredura. ....	33
Figura 6 Filtração do mosto cervejeiro por tina filtro .....	36
Figura 7 Filtração do mosto cervejeiro por fitro prensa .....	36
Figura 8 Grau de Fermentação Aparente Limite .....	38
Figura 9 Processo de Produção da Cerveja .....	40
Figura 10 Possíveis rotas de aplicação do bagaço de malte .....	44
Figura 11 Levedura seca vendida pelas cervejarias.....	45
Figura 12 Possíveis produtos obtidos a partir do material lignocelulósico no conceito de biorrefinaria. ....	49
Figura 13 Conceito da Biorrefinaria em duas plataformas.....	50
Figura 14 Esquema da molécula de celulose. ....	53
Figura 15 Esquema da molécula de hemicelulose. ....	54
Figura 16 Estrutura da parede celular de materiais lignocelulósicos.....	54
Figura 17 Esquema da molécula de lignina do eucalipto. ....	56
Figura 18 Esquema da molécula de lignina do eucalipto.....	62
Figura 19 Estrutura de áreas da empresa Ambev .....	66
Figura 20 • Diagrama de blocos simplificado da Rota A de produção do bagaço de malte	71
Figura 21 • Diagrama simplificado da Rota B de produção do bagaço de malte...	72
Figura 22 Equação química da reação de hidrólise da celulose .....	73
Figura 23 Obtenção anual de glicose pela Rota A e Rota B. ....	76
Figura 24 Impacto dos custos de produção operacional do xarope de glicose. ....	83

Figura 25 Impacto da conversão enzimática em relação ao custo operacional.....	86
Figura 26 Impactos financeiros com melhores rendimentos de processo. ....	87
Figura 27 Fotos da etapa de secagem do bagaço de malte .....	91
Figura 28 Análise de teor de extrativo por método Soxhlet.....	92
Figura 29 (a) Superfície de resposta para a concentração de glucana (expressa em %celulose) do bagaço de malte pré-tratado à temperatura de 121°C. (b) Superfície de resposta para a concentração de glucana (expressa em %celulose) do bagaço de malte pré-tratado à temperatura de 124°C. (c) Superfície de resposta para a concentração de hemicelulose (expressa em %hemicelulose) do bagaço de malte pré-tratado a temperatura de 121°C. (d) Superfície de resposta para a concentração de hemicelulose (expressa em %hemicelulose) do bagaço de malte pré-tratado a temperatura de 124°C.....	103
Figura 30 Bagaço de malte pós tratamento hidrotérmico .....	109
Figura 31 Comportamento do grau de severidade em função do tempo e temperatura. ....	110
Figura 32 . Perfil de concentração da glicose em função do tempo de hidrólise para cargas de sólido 50 g/L e 100 g/L por tempo (h).....	111
Figura 33 Perfil de concentração da xilose em função do tempo de hidrólise para cargas de sólido 50 g/L e 100 g/L.....	112

**LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 Ranking dos estados com maior número de cervejarias no Brasil.....	24
Quadro 2 Composição média (grão integral e com casca) do malte de cevada. ....	27
Quadro 3 Composição média do lúpulo.....	31
Quadro 4 Composição do mosto. ....	37
Quadro 5 Composição química do bagaço de malte.....	42
Quadro 6 Composição média da levedura seca da cervejaria.....	46
Quadro 7 Composição lignocelulósica de diferentes biomassas.....	52
Quadro 8 Lista de diferenças entre celulose e hemicelulose.....	55

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 Resumo dos valores médios do bagaço de malte .....	68
Tabela 2 Quantidade teórica de celulose, hemicelulose e lignina produzida na Nova Rio .....	73
Tabela 3 Especificação dos principais equipamentos .....	77
Tabela 4 Lista de equipamentos do projeto para Rota A e Rota B .....	80
Tabela 5 Cálculos de Receita e Payback da produção de Xarope de Glicose. ....	85
Tabela 6 Matriz de experimentos realizados para cada planejamento experimental.	96
Tabela 7 Condições de análise no HPLC.....	98
Tabela 8 Composição do Bagaço de Malte da cervejaria.....	100
Tabela 9 (a) Caracterização da fração sólida obtida por tratamento hidrotérmico a temperatura de 121°C (b) Caracterização da fração sólida obtida por tratamento hidrotérmico a temperatura de 124°C .....	102
Tabela 10 (a) Caracterização da fração líquida obtida por tratamento hidrotérmico a pressão de 121°C; (b) Caracterização da fração líquida obtida por tratamento hidrotérmico a pressão de 124°C;.....	107
Tabela 11 Eficiência de Hidrólise da celulose nas condições de hidrólise enzimática aplicadas .....	113

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

**ART:** Açúcar redutor total

**BNDES:** Banco de Desenvolvimento Econômico e Social

**BSA:** Albumina bovina sérica

**CIT:** Centro de Inovação e Tecnologia

**CLAE:** Cromatografia Líquida de alta eficiência

**GHO:** Global Health Observatory

**HMF:** Hidroximetilfurfural

**IUBMB:** *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*

**MAPA:** Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**NREL:** *National Renewable Energy Laboratory*

**PIB:** Produto Interno Bruto

**SENAI:** Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial

**TCU:** Tribunal de Contas da União

## LISTA DE SÍMBOLOS

**atm:** Unidade de pressão atmosfera;

**°C:** Grau Celsius;

**CC:** Conversão de celulose (g de glicose / g de celulose);

**C1:** Concentração de glicose (g/L)

**C2:** Concentração de açúcares redutores (g/L)

**C<sub>E</sub>:** Custo de energia, R\$/ton de xarope de glicose;

**C<sub>Mo</sub>:** Custo de mão de obra, R\$/ton de xarope de glicose;

**C<sub>z</sub>:** Custo da enzima, R\$/ton de xarope de glicose.

**EC:** *Enzyme Commission Numbers*

**E<sub>H</sub>:** Eficiência da hidrólise enzimática (%);

**f<sub>h</sub>:** Fator de hidrólise da celulose (0,9);

**g:** grama

**g/L:** grama por litro

**G<sub>H</sub>:** Concentração de glicose liberada após hidrólise enzimática (g/L);

**G<sub>T</sub>:** Concentração teórica de glicose (g/L).

**H<sup>+</sup>:** íon Hidrogênio

**H1:** Pré-tratamento hidrotérmico em temperatura 121°C;

**hL:** hectolitro

**kg:** kilo

**kWh:** Quilowatt-hora

**m:** Massa da amostra seca;

**M<sub>B</sub>:** Massa da biomassa seca.

**M<sub>BC</sub>**: Massa da biomassa seca+cartucho antes da extração;

**M<sub>BCE</sub>**: Massa da biomassa seca+cartucho após extração;

**m<sub>glicose</sub>**: massa de glicose no hidrolisado (g de glicose);

**mg**: Miligrama;

**min**: Minutos

**m<sub>inicial</sub>**: massa seca do bagaço (g de bagaço);

**mL**: Mililitro

**μL**: Microlitro

**mmolar**: massa molar

**m<sup>3</sup>**: metro cúbico

**nm**: nanômetro

**%**: Percentual

**%m/m**: Percentual massa por massa

**%p/p**: Percentual peso por peso

**pH**: Potencial hidrogeniônico;

**PM**: Peso úmido

**PS**: Peso seco

**P<sub>xG</sub>**: Preço do xarope de glicose;

**R\$**: Reais

**R<sub>o</sub>**: Grau de severidade;

**R<sub>xG</sub>**: Receita esperada do xarope de glicose;

**t**: tempo de residência;

**T**: Temperatura;



**T<sub>E</sub>**: Teor de extrativo;

**Tons**: Toneladas

**T<sub>ref</sub>**: Temperatura de referência para um caso base

**TU** = Teor de umidade (0 a 100%)

**USD**: Dólar dos Estados Unidos

**V**: Volume total da solução de açúcar;

**V<sub>XG</sub>**: Quantidade produzida de xarope de glicose, ton/ano;

**y<sub>i</sub>**: conteúdo de celulose presente no bagaço.

**g**: força gravitacional da terra

**W1**: Peso do resíduo seco da filtragem (g);

**W2**: Peso do resíduo após calcinação (g);

### **Letras gregas**

**α**: Diluição da amostra.

## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 1:</b> Conversão de glicose pela levedura.....	31
<b>Equação 2:</b> Cálculo do grau de severidade.....	61
<b>Equação 3:</b> Cálculo de conversão de celulose.....	73
<b>Equação 4:</b> Receita esperada da produção de xarope de glicose.....	83
<b>Equação 5:</b> Payback do Projeto.....	83
<b>Equação 6:</b> Cálculo do teor de umidade do bagaço de malte.....	90
<b>Equação 7:</b> Cálculo do teor de extrativo.....	92
<b>Equação 8:</b> Cálculo de teor de celulose.....	93
<b>Equação 9:</b> Cálculo de teor de hemicelulose.....	93
<b>Equação 10:</b> Cálculo de teor de lignina.....	93
<b>Equação 11:</b> Cálculo de teor de cinzas.....	93
<b>Equação 12:</b> Eficiência de hidrólise enzimática da celulose.....	97
<b>Equação 13:</b> Conversão da celulose em glicose.....	98

## Sumário

1	INTRODUÇÃO .....	16
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	18
	2.1. OBJETIVO GERAL.....	18
	2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	<b>ESTRUTURA DO TRABALHO</b> .....	19
4.1	CERVEJA .....	20
	4.1.1 <b>Definição legal</b> .....	20
	4.1.2 <b>Histórico</b> .....	21
	4.1.3 <b>Mercado</b> .....	22
	4.1.4 <b>Matérias-primas</b> .....	24
4.2	PROCESSO DE PRODUÇÃO DA CERVEJA .....	34
	4.2.1 <b>Malteação da cevada</b> .....	34
	4.2.2 <b>Preparo da matéria-prima</b> .....	34
	4.2.3 <b>Mostura e clarificação do mosto cervejeiro</b> .....	35
	4.2.4 <b>Cocção do mosto</b> .....	37
	4.2.5 <b>Resfriamento e Fermentação</b> .....	38
	4.2.6 <b>Maturação e processamento final</b> .....	39
4.3	RESÍDUOS DA CERVEJARIA .....	41
	4.3.1 <b>Bagaço de malte</b> .....	41
	4.3.2 <b>Levedura residual</b> .....	45
	4.3.3 <b>Trub</b> .....	46
	4.3.4 <b>Terra Diatomácea</b> .....	47
4.4	CONCEITO DE BIORREFINARIA.....	48
	4.4.1 <b>Material de composição lignocelulósico</b> .....	51
	4.4.1.1 Celulose .....	52
	4.4.1.2 Hemicelulose.....	53
	4.4.1.3 Lignina.....	55
	4.4.2 <b>Pré-tratamento da lignocelulose</b> .....	56
	4.4.2.1 Pré-tratamento hidrotérmico .....	57
	4.4.2.2 Fatores que influenciam no pré-tratamento .....	59
	4.4.3 <b>Hidrólise enzimática da celulose</b> .....	61

<b>5</b>	<b>ESTUDO DE CASO</b> .....	64
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA EMPRESA ALVO .....	64
5.1.1	<b>História da empresa alvo</b> .....	64
5.1.2	<b>Estrutura da empresa</b> .....	65
5.1.3	<b>Áreas diretamente responsáveis pelo estudo</b> .....	66
5.2	DESENVOLVIMENTO .....	67
5.2.1	<b>Obtenção de dados de geração de resíduos</b> .....	67
5.2.2	<b>Processo de produção e Proposta de rotas tecnológicas</b> .....	69
5.2.3	<b>Cálculos teóricos de processo</b> .....	73
5.2.4	<b>Custos de implantação</b> .....	76
5.2.5	<b>Retorno do investimento</b> .....	83
5.3	CONSIDERAÇÕES FINAIS DO ESTUDO DE CASO .....	88
<b>6</b>	<b>AVALIAÇÃO DE PRÉ-TRATAMENTO E HIDRÓLISE DO BAGAÇO DE MALTE</b> .....	90
6.1	MATERIAIS E MÉTODOS .....	90
6.1.1	<b>Preparo e acondicionamento da matéria-prima</b> .....	90
6.1.2	<b>Desenvolvimento experimental do pré-tratamento e hidrólise do bagaço de malte</b> .....	91
6.1.2.1	Caracterização do bagaço de malte .....	91
6.1.2.2	Pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de malte .....	95
6.1.2.2.1	Planejamento Experimental .....	95
6.1.2.3	Hidrólise enzimática da celulose .....	98
6.2	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	100
6.2.1	<b>Caracterização do bagaço de malte</b> .....	100
6.2.2	<b>Pré-tratamento hidrotérmico</b> .....	101
6.2.2.1	Planejamento experimental .....	101
6.2.2.2	Pré-tratamento hidrotérmico em temperatura 121°C (H1) e 124°C (H2) .....	101
6.2.2.4	Hidrólise enzimática do bagaço de malte <i>in natura</i> e pré-tratado .....	111
6.3	CONSIDERAÇÕES FINAIS DA PRODUÇÃO DE XAROPE DE GLICOSE .....	114
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....	115
	APÊNDICE 1 – PLANILHA DE CÁLCULOS DE SALÁRIOS E ENCARGOS DO TCU .....	124

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a preocupação em relação à sustentabilidade é uma questão importante nas empresas. O conceito de biorrefinaria é uma alternativa para os resíduos industriais gerados nos grandes mercados. A possibilidade de utilização de materiais lignocelulósicos para diferentes aplicações, como obtenção de combustível, produtos químicos, fertilizantes e produtos para a indústria de alimentos, vem sendo explorada pelos departamentos de desenvolvimento e inovação de diversas empresas.

Nos últimos anos, o mercado de bebidas tem apresentado cenário favorável. Segundo estudo do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES, 2017), aponta que a indústria de bebidas tem apresentado crescimento proporcional superior ao Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro. Com *Market Share* de cerca de 68%, a Companhia de Bebidas das Américas (Ambev) produziu 80.233.600 Milhões de hectolitros de cerveja em 2017.

O bagaço de malte é gerado durante a etapa de mosturação, após a extração dos compostos de interesse do cereal para preparo do mosto. Hoje em dia, esse resíduo é vendido para elaboração de ração de gado com o valor de venda de cerca de R\$75,00 por tonelada, dependendo da região. Esse valor é baixo em comparação com o potencial de seu material rico em nutrientes, como fibras e proteínas. O bagaço de malte é um material com cerca de 60% m/m de composição lignocelulósica, formado por celulose, hemicelulose e lignina.

Como proposta para melhor aproveitamento do resíduo cervejeiro, visando aumento de lucro por parte das empresas de cerveja e aspecto de sustentabilidade, o presente estudo visa à avaliação da utilização do bagaço de malte, através do estudo de pré-tratamento hidrotérmico e hidrólise enzimática, para conversão em xarope de glicose. O xarope de glicose produzido pode ser vendido diretamente para consumidor final de interesse e, também, aplicado no próprio processo cervejeiro, como adjunto para o mosto, substituindo parcialmente a utilização de malte de cevada, conforme permitido pela legislação vigente (BRASIL, 2009).

Apesar do xarope de glicose ser utilizado como adjunto em poucas receitas de cerveja de grande escala, tendo como objetivo estabelecer variedades especiais no sabor e na cor da cerveja, as suas aplicações na indústria de alimentos são inúmeras. O presente trabalho considera a utilização interna, tanto na cerveja quanto no refrigerante, e venda para consumidor final externo, na forma de adoçante e espessante para alimentos, como geleias, balas e barras de cereal.

Para determinar o *Tamanho da Oportunidade* do projeto para a Ambev, foram levantados quantidades e preços praticados pela empresa. O volume de bagaço de malte anual gerado é de 1.123.270 toneladas (14 kg de bagaço de malte por 1 hl de cerveja), com 80% de umidade (Ambev) e 16,78% (massa de glucana em massa seca de bagaço) de glucana (DRAGONE, 2007). Os dados resultam em cerca de 38 mil toneladas de glicose teórica produzida, com o preço de mercado de até R\$13,00 por kg (MURPHY&SON LTDA., 2018). Dessa forma, o tamanho da oportunidade é de mais de 500 milhões de reais por ano.

Devido ao grande potencial financeiro do projeto, o presente trabalho visa a avaliação da produção do bagaço de malte para produção de xarope de glicose na maior cervejaria da Ambev, Nova Rio em Campo Grande, Rio de Janeiro. O trabalho foi focado na etapa de desenvolvimento do projeto, considerando as etapas de identificação do problema, avaliação do potencial financeiro com base em dados teóricos e prova do conceito da nova tecnologia em escala de laboratório.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar o potencial do projeto de implantação de uma planta de produção de xarope de glicose a partir do bagaço de malte oriundo de cervejaria, abordando o conceito de biorrefinaria.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar Estudo de Caso na empresa Ambev S.A.;
- Propor Rotas (A e B) para processo de produção
- Caracterizar o bagaço de malte cervejeiro;
- Estabelecer as condições de pré-tratamento do bagaço;
- Estabelecer as condições de hidrólise enzimática com vistas à produção de xarope de glicose.

### 3 ESTRUTURA DO TRABALHO

Primeiramente, na referência bibliográfica serão abordados os conceitos necessários para o entendimento das discussões. Os aspectos teóricos referentes à cerveja e os resíduos de seu processo são apresentados, com foco no bagaço de malte. Foram discutidos os tópicos relacionados à estrutura de sua composição lignocelulósica, às tecnologias de pré-tratamento na separação das frações presentes na matéria-prima e à hidrólise enzimática.

Diante do exposto, é apresentado o estudo de caso utilizando como base a cervejaria Nova Rio da empresa Ambev, localizada em Campo Grande, Rio de Janeiro. Foram levantados dados de volumes e preço do bagaço de malte gerado para embasar os cálculos da potencial receita anual gerada pela utilização do bagaço de malte como matéria-prima para produção de xarope de glicose. Adicionalmente, foram avaliados os custos operacionais e capitais envolvidos na implementação e desenvolvimento da planta e calculado o tempo de retorno de investimento.

A terceira seção engloba a etapa experimental do trabalho para prova de conceito da produção de xarope de glicose a partir do bagaço de malte. A etapa experimental é dividida em caracterização do bagaço de malte, pré-tratamento hidrotérmico (avaliação das condições de concentração sólido/ líquido, tempo e temperatura) e hidrólise enzimática (bagaço *in natura* e condição central do pré-tratamento) a partir do material de composição lignocelulósico.

Por fim, a última seção contém a conclusão do trabalho propondo a melhor condição baseada no trabalho elaborado e propondo potenciais aplicações e estudos futuros. O presente trabalho faz parte de uma das linhas de pesquisas desenvolvidas sob a coordenação dos professores Maria Antonieta Peixoto Gimenes Couto, D.Sc, e Thiago Rocha dos Santos Mathias, D.Sc., com o foco na valorização de resíduos industriais dentro do conceito de biorrefinaria.



## 4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No presente capítulo são apresentados os diferentes aspectos teóricos referentes à temática abordada. A seção inicia-se com a definição e a legislação vigente da cerveja, o resumo histórico e seu contexto no mercado brasileiro e mundial. Em seguida, foi discutido o conjunto de matérias primas utilizadas no processo cervejeiro, o bioagente da fermentação e o processo de produção em si, incluindo os resíduos gerados neste processo. Posteriormente, foi apresentado o mercado atual dos resíduos cervejeiros, seguido do conceito de biorrefinaria na indústria. Por fim, o material lignocelulósico foi abordado, os possíveis pré-tratamentos e a sua hidrólise enzimática.

### 4.1 CERVEJA

#### 4.1.1 Definição legal

A produção de cerveja é regulamentada pelo decreto brasileiro nº 6.871, de 4 de junho de 2009, da lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que define a cerveja como a bebida obtida por fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo. A cerveja pode ser classificada de diferentes formas em relação ao seu processo de produção ou matérias primas utilizadas. A legislação brasileira classifica a bebida quanto ao extrato primitivo<sup>1</sup>, à cor, ao teor alcoólico, à proporção de malte de cevada e ao tipo de fermentação (BRASIL, 2009). Compete ao Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA – a regulamentação, inspeção e fiscalização dos produtores de bebidas em território nacional. O MAPA também é responsável por fornecer informações e esclarecimento em relação às demandas da sociedade (MARCUSO, 2017).

O malte de cevada pode ser substituído pelo seu extrato, resultado da desidratação do mosto de malte até o estado sólido ou pastoso, mantendo as propriedades quando reconstituído. A legislação brasileira também permite a substituição parcial do malte de cevada por adjuntos cervejeiros, cujo emprego não pode ultrapassar 45% em relação ao extrato primitivo. São considerados adjuntos os cereais aptos

---

<sup>1</sup> Extrato Primitivo: É uma medida em graus Plato (°P) da concentração de sólidos (%m/m), como proteínas, açúcares, dextrinas, presentes no mosto antes da fermentação. A determinação do parâmetro é feita através de um densímetro, com escala em gravidade específica ou em grau Plato.

para consumo humano, malteados ou não, bem como amido e açúcares de origem vegetal. Os açúcares vegetais não provenientes de cereais são limitados a 10% em peso em relação ao extrato primitivo para cervejas claras e 50% para cervejas escuras (BRASIL, 2009).

No cenário mundial, a legislação e a regulamentação da produção foram fatores marcantes na história das escolas cervejeiras - alemã, belga, inglesa e americana. Vale ressaltar que cada país apresenta sua legislação própria, mas, de modo geral, a definição de bebida é a mesma, com uso de água, malte (podendo conter adjunto ou não), lúpulo e fermentação por ação da levedura cervejeira.

#### **4.1.2 Histórico**

As primeiras evidências de produção e consumo de cerveja vieram da China há mais de 7.000 anos. Além da China, há indícios de produção e consumo de cerveja em uma região chamada Suméria, de solo fértil, localizada entre os Rios Tigre e Eufrates, no sul da Mesopotâmia, no começo do milênio 5.000 a.C. Por volta de 3.000 a.C., toda a sociedade egípcia consumia cerveja. Quando o Egito foi conquistado pelo império romano, o consumo de vinho pela elite foi difundido. Porém, a preferência pela cerveja foi mantida para a população de massa (MEUSSDOERFFER, 2009). A expansão do império romano coincidiu com a ampliação da cultura do consumo de vinho e presença de viniculturas na Europa (POELMANS e SWINNEN, 2012).

Algumas tribos Celtas continuaram a consumir cerveja mesmo com a cultura de consumo e produção de vinho imposta pelo império romano, especialmente na região norte do império, onde a influência alemã era grande e era mais difícil de se obter vinho. Essa região, hoje composta pela Grã-Bretanha, Bélgica e Alemanha, continuou consumindo cerveja em grande quantidade mesmo com a pressão romana. No quinto século d.C., os alemães tomaram controle de grande parte do leste do império romano, retomando a cultura de consumo de cerveja. A ideia negativa das pessoas que tomavam cerveja, imposta pelo império romano, não era mais aplicada (POELMANS e SWINNEN, 2012).

Em torno dos anos 800 d.C., o imperador Carlos Magno foi responsável pela construção de diversos mosteiros, dos quais muitos se tornaram centros cervejeiros.

Inicialmente, a maioria dos mosteiros era localizada no sul da Europa, onde o clima era propício para o cultivo de uvas e era comum a produção de vinho pelos monges. Porém, com a instalação de mosteiros no norte da Europa, onde o clima não é favorável para o cultivo de uva e sim para o cultivo de cevada, os monges começaram a produzir cerveja ao invés do vinho. A cerveja produzida pelos monges era consumida por eles próprios e também oferecida aos peregrinos e pobres. No século XIV surgem as cervejarias comerciais e a participação dos mosteiros na produção de cerveja diminui (MEUSSDOERFFER, 2009).

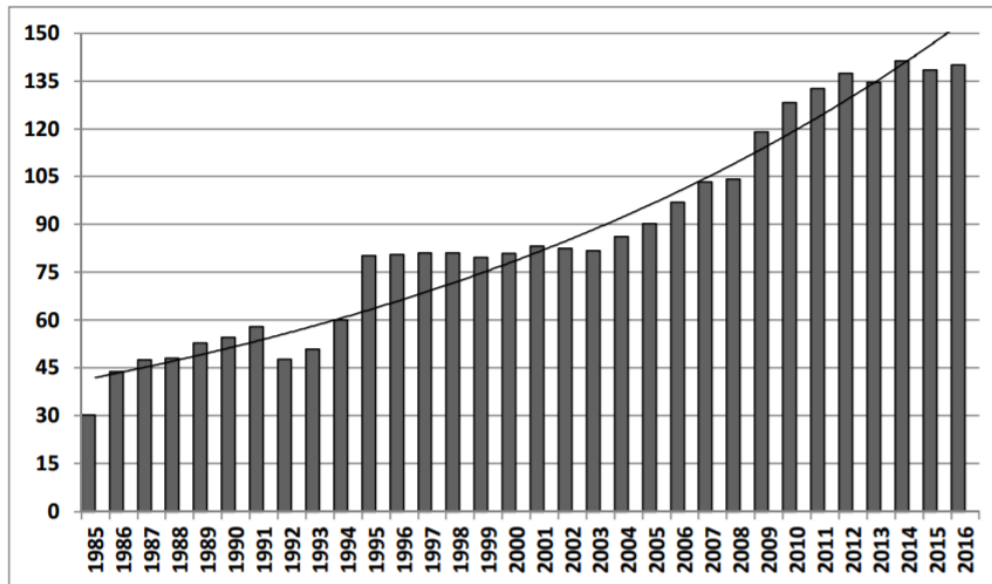
Até esse momento da história, era comum o uso de uma mistura de ervas chamada *gruit*, utilizada para dar amargor e aroma à cerveja. A composição da mistura dependia da região e da disponibilidade; o *gruit* poderia conter alecrim selvagem, coentro, miléfolio, entre outros. Por diversas vezes continha ervas tóxicas ou alucinógenas em sua mistura. A mistura era utilizada para taxar as cervejarias, já que eram obrigadas a comprar o *gruit* e não era permitida a produção de cerveja sem a adição do insumo. A formulação do *gruit* era mantida em segredo e a adição de lúpulo proibida em diversos locais, deixando as cervejarias reféns das autoridades. Como justificativa oficial o governo afirmava que o gosto da cerveja com adição de lúpulo seria muito diferente do estilo tradicional alemão e poderia contaminar a cerveja.

Apesar de já usado no Século IX, o lúpulo não era popular até o Estado ficar descontente com a aplicação do *gruit* e criar leis para proibir o seu uso. Aos poucos, tanto pela necessidade de inovação quanto pelas leis de incentivo, o uso do lúpulo foi aprimorado e passou a ser usado na Alemanha e Países Baixos. Entre as principais vantagens do uso do lúpulo estão o preço menor que o *gruit* e a sua propriedade de conservação da cerveja (MEUSSDOERFFER, 2009).

#### **4.1.3 Mercado**

A produção de cerveja apresenta tendência crescente nos últimos 30 anos. Atualmente, o Brasil ocupa o terceiro lugar em maior produção de cerveja, com 140 milhões de hectolitros anuais (**Figura 1**).

No “ranking” mundial, o volume nacional fica atrás da China (460 milhões de hl) e Estados Unidos (221 milhões de hl), seguido por Alemanha (95 milhões de hl) e Rússia (78 milhões) (MARCUSO, 2017).



**Figura 1** Avaliação temporal do volume de cerveja produzido no Brasil em milhões de hectolitros

**Fonte:** MARCUSO, 2015; CERVBRASIL, 2016.

O setor cervejeiro nacional representou 1,6% do PIB em 2016 (CERVBRASIL, 2016), presente em mais de 50 grandes complexos industriais e 610 empresas cervejeiras. Somente em 2017, o MAPA concedeu 91 novos registros de estabelecimentos produtores de cerveja. Cerca de 83% das cervejarias do Brasil são localizadas na região Sul e Sudeste, o que evidencia a influência da imigração europeia com o hábito de consumir cerveja. O **Quadro 1** mostra o “ranking” dos estados brasileiros com maior número de cervejarias em operação (MARCUSO, 2017).

<i>Ranking</i>	Estado	Número de Cervejarias
1	São Paulo	122
2	Rio Grande do Sul	119
3	Santa Catarina	73
4	Minas Gerais	72
5	Paraná	66
6	Rio de Janeiro	47
7	Goiás	20
8	Pernambuco	13
9	Espirito Santos	10
10	Mato Grosso	10

**Quadro 1** Ranking dos estados com maior número de cervejarias no Brasil

**Fonte:** MARCUSSO, 2017.

A ABInbev é uma empresa belgo-brasileira formada pela fusão da belga Interbrew, da brasileira Ambev e da americana Anheuser-Bush. A companhia tem mais de 200 rótulos de bebida em seu portfólio e lidera o mercado mundial de cerveja. Segundo relatório da ABInbev emitido para a imprensa no segundo trimestre de 2018, o mercado da companhia está em evolução, com crescimento da receita em 4.7% e do volume total de produção em 0.8% em comparação ao mesmo período do ano de 2017. O crescimento no negócio da empresa foi amplo, principalmente impulsionado pelo Brasil, México, China e Europa Ocidental (ABINBEV, 2018). A produção de cerveja está em crescimento e, cada vez mais, as grandes empresas estão focadas em sustentabilidade.

#### **4.1.4 Matérias-primas**

As principais matérias-primas do processo de produção da cerveja são: água, malte de cevada e lúpulo. Também podem ser utilizados adjuntos cervejeiros. A qualidade desses ingredientes tem forte influência no produto. A seguir, estas matérias-primas são brevemente descritas.

## ✓ Água

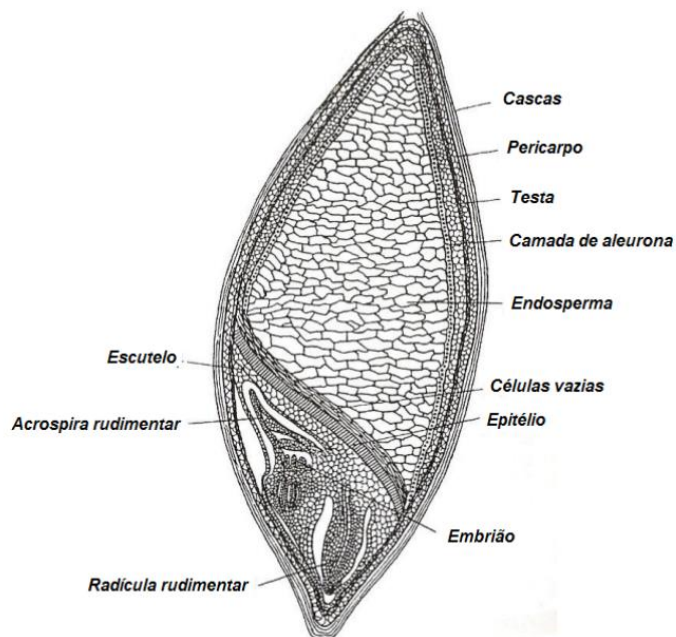
A água é a matéria-prima mais abundante na cerveja e, também, mais importante no processo de produção da cerveja como um todo. Além de estar presente na composição do produto em questão, a água tratada é utilizada na diluição da cerveja e limpeza dos equipamentos (CHARLES BAMFORTH, 2009). As indústrias de bebida obtêm a água através de recursos públicos ou de seus próprios poços (KROTTENHALER; GLAS, 2009).

Antigamente, as características da água, principalmente a dureza, usada na produção de cerveja eram determinantes para o estilo de cerveja desejado. Hoje em dia, a água, oriunda de qualquer fonte, pode ser adequada de forma a atender os critérios legais e os padrões desejados para produção de diferentes estilos de cerveja (AB INBEV, 2017).

As principais substâncias que quando presentes na água podem causar problemas na produção são ferro, manganês, nitratos, hidrocarbonetos halogenados e pesticidas. Existem diversas alternativas químicas e físicas para tratamento de água. Os métodos comuns para tratamento de água cervejeira utilizados na indústria são a troca iônica e a osmose inversa com membranas (KROTTENHALER; GLAS, 2009).

## ✓ Malte de cevada

O grão da cevada (*Hordeum vulgare*) é composto, principalmente, por quatro estruturas: pericarpo, aleurona, embrião e endosperma. A parte mais externa, composta pelo pericarpo, protege o grão de contaminação por fungos e insetos e ainda controla a absorção de água durante a germinação do grão (McENTYRE *et al.*, 1998). A camada de aleurona e embrião são tecidos que controlam os processos fisiológicos de produção de enzimas e o grau de hidrólise das paredes celulares do endosperma durante a germinação (PALMER, 1999). Tais enzimas terão importante aspecto tecnológico no preparo do mosto cervejeiro, pela sua ação e hidrólise de macromoléculas. O endosperma, formado basicamente por amido inserido em uma matriz proteica, é o principal responsável pela reserva de nutrientes do grão (PALMIER, 1989). Os grânulos de amido são revestidos por hemicelulose e protoplasmas (proteínas). A **Figura 2** apresenta a estrutura do grão de cevada.



**Figura 2** Ranking dos estados com maior número de cervejarias no Brasil

**Fonte:** KUNZE, 1999.

O malte da cevada é obtido a partir do processo de malteação da cevada, que será descrito posteriormente em tópico específico. Existem dois tipos de cevada usados na malteação e produção de cerveja. A cevada de duas fileiras (*two-rows*) possui duas fileiras de grãos em sua espiga, enquanto a cevada de seis fileiras (*six-rows*) é formada por seis fileiras, como mostrado na **Figura 3**. O espaço interno da cevada de seis fileiras é restrito, o que pode causar deformação nos grãos, resultando no menor acúmulo de amido. Baseado nessa informação, alguns cervejeiros com menor produção preferem a cevada de duas fileiras por possuir maior quantidade de material com potencial fermentável. Já a cevada de seis fileiras acumula grande quantidade de proteína. Como as enzimas são proteínas, esse tipo de cevada permite a utilização de adjuntos em grande quantidade, já que esses, em geral, não possuem enzimas próprias (CHARLES BAMFORTH, 2009).



**Figura 3** Cevada de duas fileiras (two-rows) e seis fileiras (six-rows).

**Fonte:** Adaptado de CHERNEY, 2017.

Além da proteína, o malte de cevada é constituído, majoritariamente, por fibras e carboidratos. O **Quadro 2** mostra a composição média do grão integral e com casca de cevada de malte.

<b>Composição média do malte de cevada (% p/p em matéria seca)</b>	
<b>Matéria seca</b>	89,49
<b>Proteína Bruta</b>	13,01
<b>Matéria Mineral</b>	2,45
<b>Extrato Etéreo</b>	2,08
<b>Fibra Total</b>	22,06
<b>Fibra Insolúvel</b>	16,63
<b>Fibra Solúvel</b>	5,43
<b>Carboidratos não-fibrosos</b>	60,40

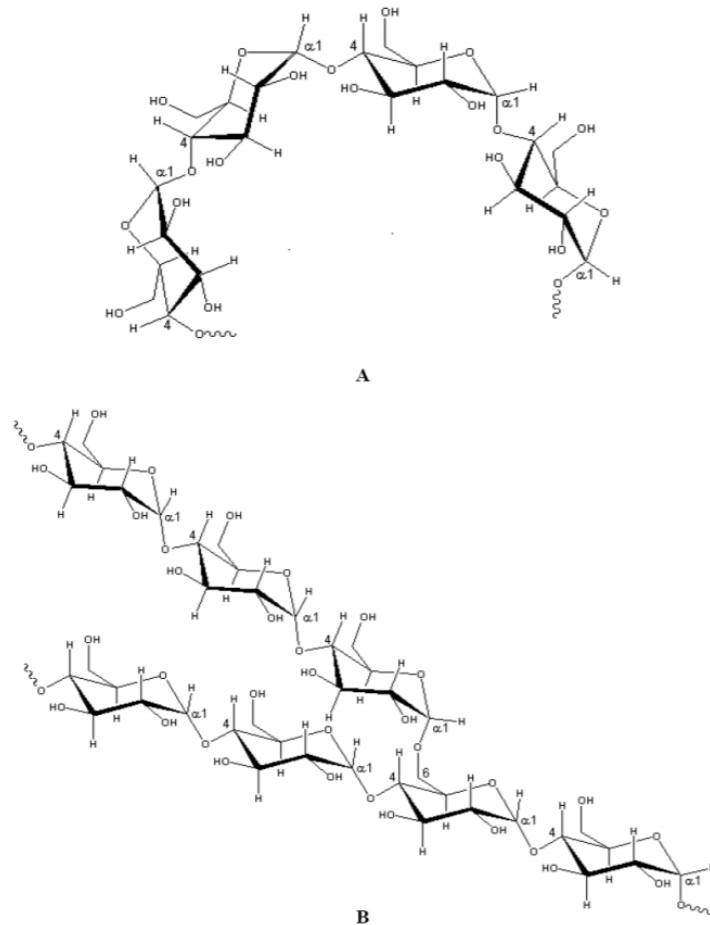
**Quadro 2** Composição média (grão integral e com casca) do malte de cevada.

**Fonte:** Adaptado MAYER, 2007.



Segundo Kunze (1999), após a colheita da cevada, é importante garantir um teor de umidade menor que 15,0% para garantir sua conservação a longo prazo e melhor capacidade germinativa. O alto teor de proteína confere à cevada potencial nutricional relevante, enquanto o baixo valor de extrato etéreo indica pequena contribuição lipídica (ácido graxos) aos grãos de cevada, característica presente na maioria dos cereais. É importante ressaltar que a fração de fibra solúvel é composta majoritariamente por  $\beta$  – glucana, considerada ingrediente funcional na indústria de alimentos proporcionando benefícios nutricionais e contribuindo para o controle de doenças, devido à propriedade de redução da concentração de colesterol sanguíneo e de atenuação da resposta glicêmica. Na fração de carboidratos não-fibrosos, o amido é o principal componente presente no grão de malte.

O amido, polissacarídeo em maior proporção no grão de cevada, serve como carboidrato reserva temporário. O amido é formado basicamente por dois tipos de polímeros, mostrados na **Figura 4**.



**Figura 4 .** Estrutura de (A) Amilose - Cadeia linear e ligações  $\alpha$ -(1-4); e (B) Amilopectina - Cadeia ramificada com ligações  $\alpha$ -(1-4) e  $\alpha$ -(1-6) presentes no amido  
**Fonte:** Adaptado de LAJOLO e MENEZES (2006).

Cerca de 90% das cervejas produzidas no mundo utilizam o malte de cevada como principal grão. Porém, algumas cervejas são produzidas a partir de grãos de trigo maltados, como a Weissbiers na Alemanha, e a partir de sorgo, na África (CHARLES BAMFORTH, 2009). O malte de cevada também pode ser substituído por seu extrato, obtido pela desidratação do mosto de malte até o estado sólido, ou pastoso, devendo, quando reconstituído, apresentar as mesmas propriedades do mosto de malte. De acordo com a legislação brasileira, a cerveja deve possuir proporção de malte de cevada maior ou igual a 55% em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcar (BRASIL, 2009).

## ✓ Adjuntos

Adjuntos são produtos compostos por carboidratos, de cereais malteados ou não, que podem substituir parte do malte utilizado na produção de cerveja. Segundo a legislação brasileira regida pelo MAPA, a quantidade de adjunto não pode ser superior a 45% em relação ao extrato primitivo no mosto.

Consideram-se adjuntos cervejeiros a cevada e os demais cereais aptos para o consumo humano (malteados ou não malteados), bem como os amidos e açúcares de origem vegetal (BRASIL, 2009).

Cereais e matérias ricas em amido podem ser utilizados como fontes amiláceas, tais como *gritz* de milho, arroz e trigo. É possível utilizar qualquer fonte de amido como adjunto, desde que haja disponibilidade, valor econômico e teor amiláceo considerável. Para que as enzimas presentes no malte façam a hidrólise do adjunto amiláceo, é preciso ocorrer o processo de gelatinização para aumentar a acessibilidade ao amido. O adjunto amiláceo só pode ser adicionado diretamente ao malte de cevada quando a sua temperatura de gelatinização for inferior àquelas usadas durante a mostura <sup>2</sup>. Caso a temperatura de gelatinização seja superior à temperatura de preparo do mosto, é necessário adicionar água e aquecer o adjunto até gelatinização antes de sua adição ao processo (D'AVILA, 2012).

Outro grupo de adjuntos são os xaropes de açúcar, que não necessitam passar pelo processo de sacarificação, além de possibilitar a obtenção de cervejas mais padronizadas, conferir coloração e produzir mais corpo e sabor. Como sua forma é líquida, aumenta o rendimento na extração do malte durante a mostura, pois ocorre menor concentração de sólido (bagaço) na tina de filtração do mosto.

Alguns dos açúcares utilizados como substrato para a levedura são sacarose, açúcar invertido, glicose, maltose, açúcar de amido contendo dextrinas e corantes à base de açúcar. O xarope de glicose comercializado pode não apresentar dextrinas em sua composição, o que lhe confere a capacidade de ser totalmente fermentado.

---

<sup>2</sup> Etapa de mistura do adjunto com o malte de cevada sob ação de temperatura por determinado tempo, a ser descrita posteriormente.

## ✓ Lúpulo

O lúpulo é uma planta da espécie *Humulus lupulus*, da família *Cannabaceae*. Aproximadamente 97% do cultivo do lúpulo é utilizado para a fabricação de cerveja. São plantas trepadeiras, perenes e dióicas, o que significa a presença de flores femininas e masculinas em indivíduos diferentes. As inflorescências femininas desenvolvem glândulas secretoras de lupulina, capazes de sintetizar e armazenar resinas e óleos essenciais ricos em terpenos fenólicos e polifenóis. A reatividade dos compostos do lúpulo contribui para o amargor característico da cerveja. O **Quadro 3** mostra a composição do lúpulo.

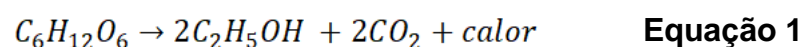
<b>Composição média do lúpulo (% p/p em matéria seca)</b>	
<b>Resina Total</b>	15-30
<b>Óleos essenciais</b>	0,5 – 3
<b>Proteínas</b>	15
<b>Monossacarídeos</b>	2
<b>Polifenóis (Taninos)</b>	4
<b>Pectina</b>	2
<b>Aminoácidos</b>	0,1
<b>Ceras e esteróides</b>	0,01 – 25
<b>Cinza</b>	8
<b>Umidade</b>	10
<b>Celulose, outros</b>	43

**Quadro 3** Composição média do lúpulo.

Fonte: ALMAGUER *et al.*, 2014

## ✓ Agente da fermentação

A levedura é responsável pela conversão de glicose em etanol e gás carbônico, sob condições anaeróbicas, com a liberação de calor (**Equação 1**).

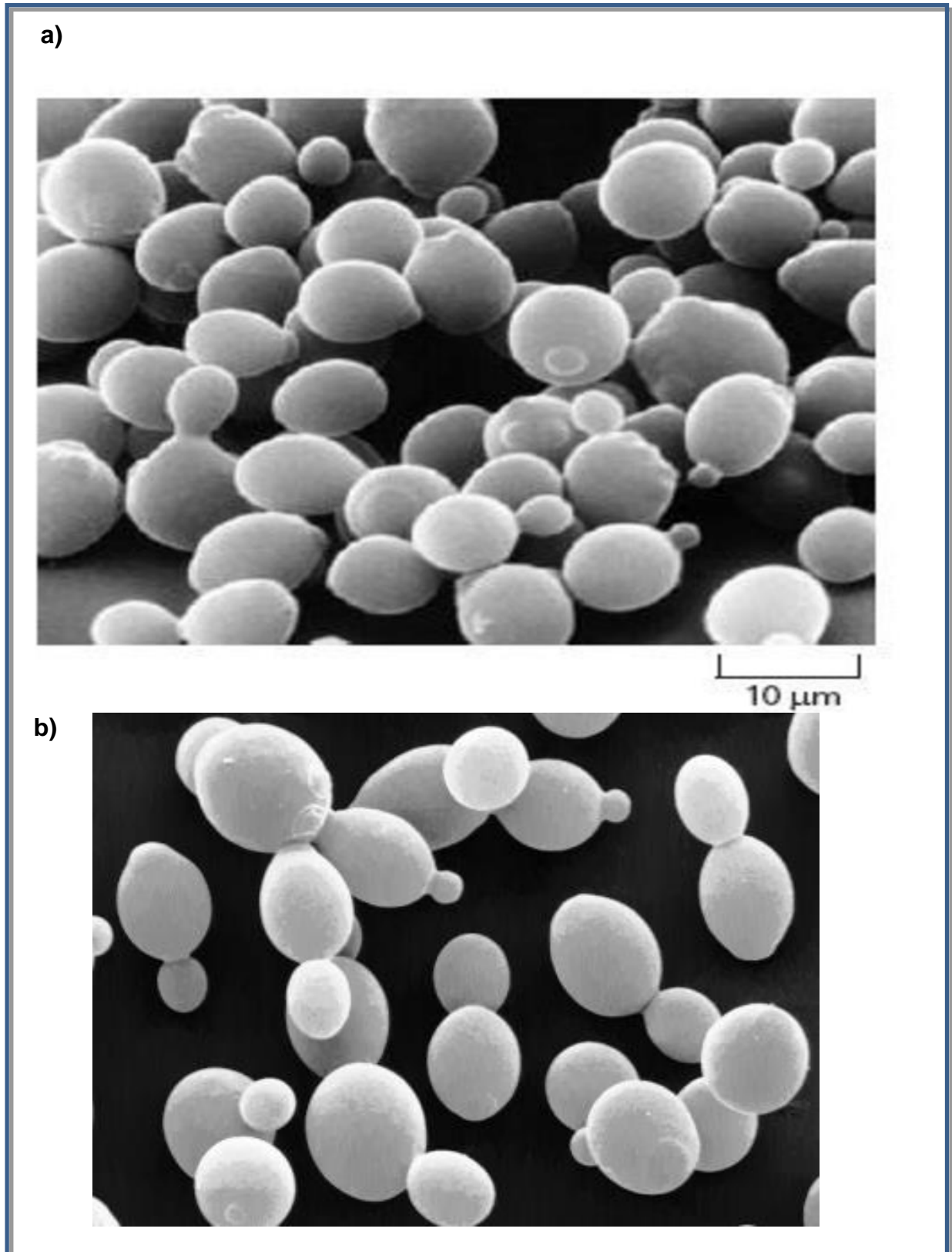


Até hoje cerca de 1.500 espécies de levedura foram reportadas, as mais importantes espécies para a tecnologia de fermentação pertencem ao gênero *Saccharomyces*. Em geral, são usados dois tipos de *Saccharomyces*:

*Saccharomyces cerevisiae*: microrganismo utilizado na produção de cervejas *ale* (cervejas de fermentação de alta), vinho, bebidas destiladas, saquê e outras bebidas fermentadas (MEIER-DÖRNBERG *et al.*, 2017).

*Saccharomyces pastorianus*: levedura usada na produção de cervejas *lager* (cervejas de fermentação de baixa) e sidra de maçã (MEIER-DÖRNBERG *et al.*, 2017).

A **Figura 5** ilustra as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces pastorianus*.



**Figura 5** (a) *Saccharomyces cerevisiae* e (b) *Saccharomyces pastorianus* por microscópio eletrônico de varredura.

**Fonte:** (a) ALBERTS, 2008 e (b) ALCHETRON, 2018

## 4.2 PROCESSO DE PRODUÇÃO DA CERVEJA

### 4.2.1 Malteação da cevada

O processo de malteação é responsável por aumentar a disponibilidade do conteúdo enzimático da cevada. A malteação prepara o grão tanto para a hidrólise do amido quanto das demais macromoléculas, com a liberação de açúcares fermentáveis e demais nutrientes. A malteação pode ser dividida em quatro etapas: maceração, germinação, secagem e crivagem (UFRGS, 2002).

- ✓ Maceração: essa etapa fornece o teor de umidade, além de oxigênio e temperatura adequada, necessários para a germinação do grão da cevada. Essa etapa é importante para fornecer suprimento de água para a aleurona, responsável por sintetizar as enzimas necessárias e disponibilizar as reservas nutritivas do endosperma.
- ✓ Germinação: O complexo enzimático age na solubilização e desagregação do tecido multicelular do endosperma, através do rompimento da parede celular e do amido. A quebra da  $\beta$ -glucana da parede celular é essencial para uma boa filtração do mosto e da cerveja. Essa fase é importante para transformação das moléculas de amido em cadeias menores, o que torna o grão mais solúvel e menos rígido. Também nessa etapa são formadas as enzimas fundamentais para o processo cervejeiro (UFRGS, 2002).
- ✓ Secagem: O grão chega à etapa de secagem com cerca de 45% de umidade e deve ser seco – até aproximadamente 4% - para preservar seu conteúdo nutritivo e sistema enzimático (UFRGS, 2002).
- ✓ Crivagem: A radícula e o caulículo são separados do malte (UFRGS, 2002).

### 4.2.2 Preparo da matéria-prima

Após o processo de malteação descrito anteriormente, o malte passa por moinho para romper a casca, reduzir o tamanho da partícula e aumentar a área de contato, de forma a facilitar a extração de compostos solúveis do malte durante a conversão enzimática (PRIEST E STEWART, 2006).

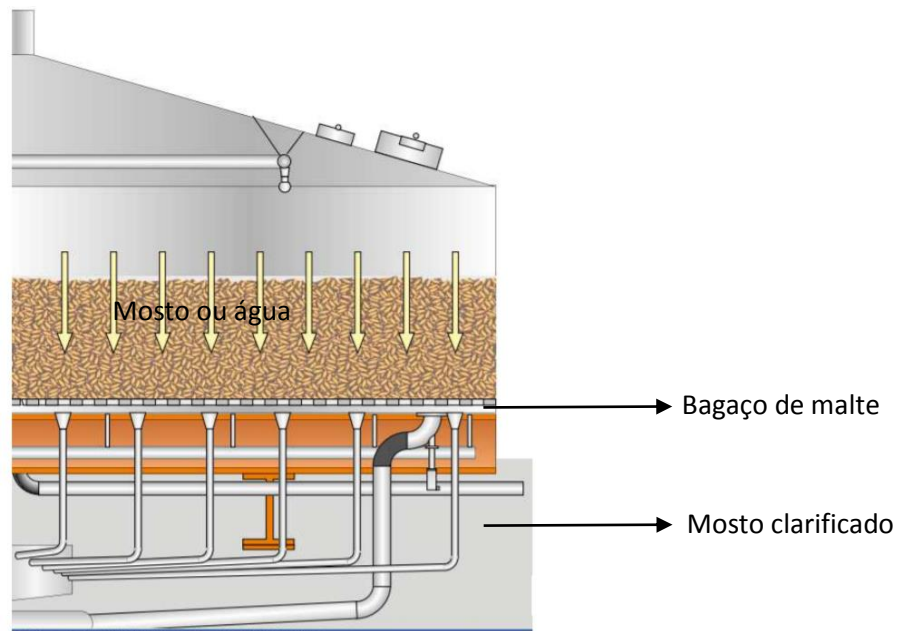
### 4.2.3 Mostura e clarificação do mosto cervejeiro

A etapa de mostura consiste na mistura do malte, com a adição de adjunto ou não, com água cervejeira, com aquecimento em determinadas temperaturas durante diferentes faixas de tempo, com o objetivo de ativar as enzimas do grão. São trabalhadas as temperaturas ótimas para degradar as  $\beta$ -glucanas, as proteínas e o amido, de forma a reduzir a viscosidade do mosto e liberar açúcares fermentescíveis e fontes nitrogenadas. O líquido, rico em açúcares, oriundo dessa etapa, é chamado de mosto doce.

O polímero de amido é degradado principalmente por duas enzimas amilolíticas,  $\alpha$ -amilase e  $\beta$ -amilase. A  $\alpha$ -amilase hidrolisa as ligações  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4), enquanto a  $\beta$ -amilase degrada as extremidades redutoras do amido, liberando maltose (GEORG-KRAEMER *et al.*, 2001).

A clarificação pode ser feita de duas formas, utilizando a tina filtro ou o filtro prensa. No caso da tina filtro (**Figura 6**), primeiramente, o mosto é filtrado por gravidade ao passar através da camada de malte residual (bagaço de malte) depositado na tina de filtração, que possuem fundo falso tipo peneira. O líquido límpido resultante é chamado de mosto primário. Após a drenagem de todo líquido, o bagaço é lavado com água por diversas vezes até o mosto, chamado de secundário, apresentar o máximo de extrato possível (quantidade de sólidos totais presentes no mosto).





**Figura 6** Filtração do mosto cervejeiro por tina filtro

**Fonte:** Adaptado de MARCONDES, [s.d.]

O filtro prensa utiliza placas filtrantes, de prolipileno, para separar o mosto dos sólidos presentes. A filtração é realizada através da passagem forçada do líquido através das placas filtrantes e o bagaço de malte fica depositado nas placas (**Figura 7**).



**Figura 7** Filtração do mosto cervejeiro por fitro prensa

**Fonte:** [http://www.gruptefsa.com/filtro\\_prensa\\_con\\_traslado\\_superior](http://www.gruptefsa.com/filtro_prensa_con_traslado_superior) (Acessado em 10 de março de 2018)

#### 4.2.4 Cocção do mosto

Uma das funções da etapa da cocção é a desinfecção do mosto, de forma a eliminar os microrganismos que possam competir com a levedura responsável pela fermentação da cerveja, evitando a formação de *off-flavors* (sabores indesejáveis causados por erro no processo) gerados por esses microrganismos contaminantes. A cocção também é responsável pela extração tanto dos compostos de amargor do lúpulo adicionado no início do processo, quanto dos óleos e aromas do lúpulo adicionado no fim da cocção. Nessa etapa ocorre a precipitação das proteínas e taninos formando uma fração sólida (*trub*, que deve ser retirado), adequação da coloração e sabor da cerveja, remoção dos compostos voláteis indesejados e concentração dos açúcares e nutrientes.

A composição do mosto no final dessa etapa é mostrada no **Quadro 4**.

Carboidrato	Composição
<b>Maltose</b>	48% - 52%
<b>Glicose</b>	12% - 15%
<b>Frutose</b>	4% - 6%
<b>Sacarose</b>	4% - 6%
<b>Maltotriose</b>	10% - 12%
<b>Maltotetraose</b>	2% - 6%
<b>Maltopentaose</b>	1% - 2%
<b>Maltohexaose</b>	2% - 6%
<b>Dextrinas Superiores</b>	15% - 20%

**Quadro 4** Composição do mosto.

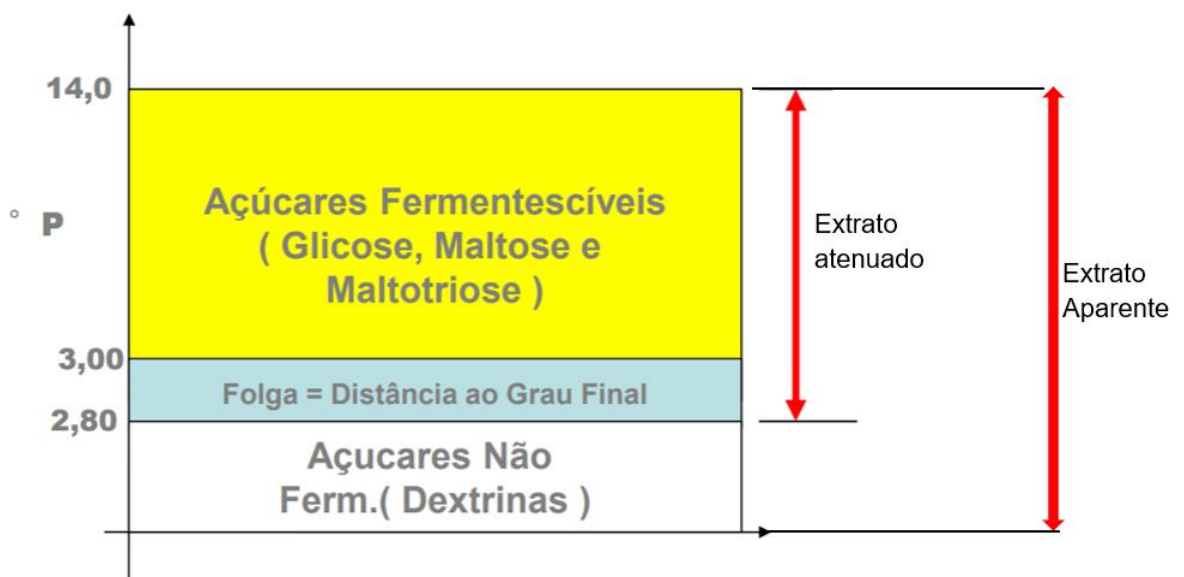
Fonte: Centro de Tecnologia SENAI, 2018

Dos açúcares e carboidratos presentes no mosto, apenas a maltose, glicose, frutose e sacarose são totalmente fermentáveis. A maltotriose é parcialmente fermentável, enquanto os demais não são fermentáveis.

#### 4.2.5 Resfriamento e Fermentação

Após a cocção, o mosto é resfriado em um trocador de calor até a temperatura de fermentação e levado à etapa de fermentação. A fermentação ocorre nos fermentadores e deve ser feita em ambiente anaeróbico. Nessa etapa, os açúcares do mosto são convertidos, sob ação da levedura, em álcool e dióxido de carbono, principalmente. O tempo de fermentação é controlado de acordo com o teor alcoólico desejado.

A fermentação é limitada pelo Grau de Fermentação Aparente limite; a partir desse ponto só estarão presentes açúcares não fermentáveis. Esse fator corresponde ao extrato atenuado (sem considerar os açúcares não fermentescíveis) durante a fermentação em relação ao extrato aparente<sup>3</sup>. A **Figura 8** representa o Grau de Fermentação Limite.



**Figura 8** Grau de Fermentação Aparente Limite  
**Fonte:** Adaptado de Centro de Tecnologia SENAI, 2018

<sup>3</sup> Extrato aparente: É uma medida em graus Plato (°P) da concentração de sólidos (%m/m), como etanol, proteínas, açúcares, dextrinas, presentes no líquido após a fermentação.

No fim da fermentação, a levedura residual é separada da cerveja por floculação (PRIEST E STEWART, 2006). Dependendo da cervejaria, a levedura pode ser reutilizada algumas vezes para fermentação e, ao chegar ao fim de sua atividade, a levedura é levada para os silos na área de sub-produtos, podendo passar pela secadora ou não, e vendida como produto para elaboração de ração animal.

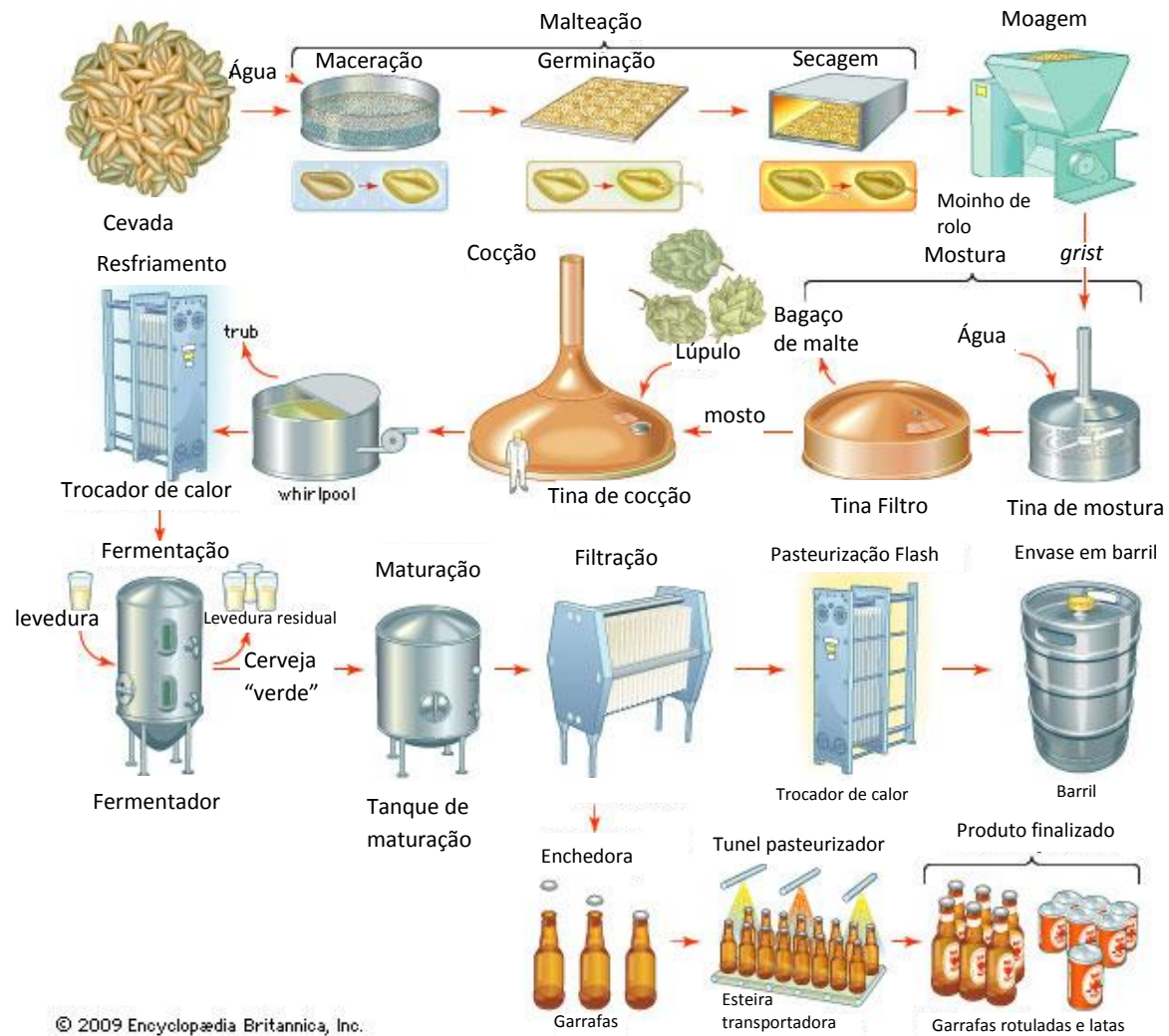
#### **4.2.6 Maturação e processamento final**

As principais funções dessa etapa são clarificação e maturação do sabor da cerveja. A maturação dura entre 5 e 15 dias dependendo do tipo de cerveja, a uma temperatura de 0°C, podendo atingir no máximo 3°C.

A baixa temperatura de maturação e o baixo pH da cerveja favorecem a deposição da levedura e de componentes que causam turbidez, como proteínas, polifenóis oxidados,  $\alpha$  e  $\beta$ -glucanos (PRIEST E STEWART, 2006). No entanto, esse processo é lento e não elimina todos os compostos indesejáveis (AQUARONE *et al.*, 2001). Algumas técnicas de clarificação são utilizadas para remover esses compostos citados, com objetivo de obter o produto estável e límpido, evitando a oxidação e turvação da cerveja durante o armazenamento e transporte. Diferentes elementos filtrantes são utilizados na forma de pó, como celulose, terra diatomácea, perlita e carvão ativado (MATHIAS; MELLO; SERVULO, 2014). Filtro prensa com fibras de celulose foram muito utilizados, porém, devido ao seu alto custo operacional, foram substituídos por terra diatomácea ou perlita (CANCELLARA, 2004).

Finalmente, a cerveja é pasteurizada, através de trocadores de calor se antes do envasamento, ou por túneis se após o envasamento. A cerveja finalizada é enviada para tanques estéreis e, para ser comercializada é envasada em latas ou garrafas. As garrafas podem ser retornáveis ou não. As retornáveis exigem a lavagem e esterilização, enquanto as descartáveis e latas são apenas submetidas a lavagem com ar estéril sob pressão seguido de água esterilizada.

A **Figura 9** representa o fluxograma de produção da cerveja.



**Figura 9** Processo de Produção da Cerveja  
**Fonte:** Adaptado de Encyclopædia Britannica, 2008.

### 4.3 RESÍDUOS DA CERVEJARIA

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), resíduo sólido industrial são todos os resíduos no estado sólido ou semi-sólido resultantes das atividades industriais, cujas características tornem inviáveis seu lançamento na rede pública de esgotos ou corpos d'água, que exijam soluções técnicas e economicamente viáveis para sua destinação (ABNT, 2004).

Na cervejaria, são geradas milhões de toneladas de resíduos sólido por ano, dos quais, os resíduos orgânicos da cervejaria são os materiais que são facilmente degradados e podem constituir problemas ambientais se não destinados de forma correta. Os principais sub-produtos da indústria cervejeira são bagaço de malte, levedura residual, *trub* e terra diatomácea, sendo, do total de produção, cerca de 80% equivalente ao bagaço de malte.

Além dos resíduos orgânicos, ainda é gerado o resíduo inorgânico composto pela terra diatomácea. Os resíduos gerados pela embalagem dos líquidos, não serão abordados no presente trabalho.

#### 4.3.1 Bagaço de malte

O bagaço de malte é o resíduo sólido, de composição lignocelulósica e rico em proteína, gerado em maior quantidade no processo de produção de cerveja. Esse resíduo contém entre 40-50% de polissacarídeos em base seca (MACHEINER *et al.*, 2003). Além de fibra e proteína, o bagaço é composto por cinzas, lipídeos, minerais (menos de 0,5%), vitaminas e aminoácidos. O teor de amido é negligenciável, pois o processo cervejeiro visa a maior conversão dos polissacarídeos em açúcar fermentescível. A casca presente no bagaço contém quantidades consideráveis de sílica e polifenóis presentes no malte. Os principais minerais presentes no bagaço são cálcio, cobalto, cobre, ferro, magnésio, manganês, fósforo, potássio, selênio, sódio e enxofre. As vitaminas encontradas são biotina, colina, ácido fólico, niacina, ácido pantotênico, riboflavina, tiamina e piridoxina (MUSSATTO, 2006).

A composição do bagaço de malte pode variar com o tipo da cevada utilizada, tempo de colheita, características do lúpulo e dos adjuntos utilizados, e da tecnologia do

processo de produção da cerveja (SANTOS; INNI, 2003). O **Quadro 5** apresenta a composição do bagaço de malte.

Componentes	%(p/p)
Celulose (glucana)	16,78
Hemicelulose	28,42
Xilana	19,94
Arabinana	8,48
Lignina Total	27,78
Lignina Klason	22,96
Lignina solúvel em ácido	4,82
Cinzas	4,60
Grupo Acetil	1,35
Proteínas	15,25
Extrativos (por diferença)	5,82

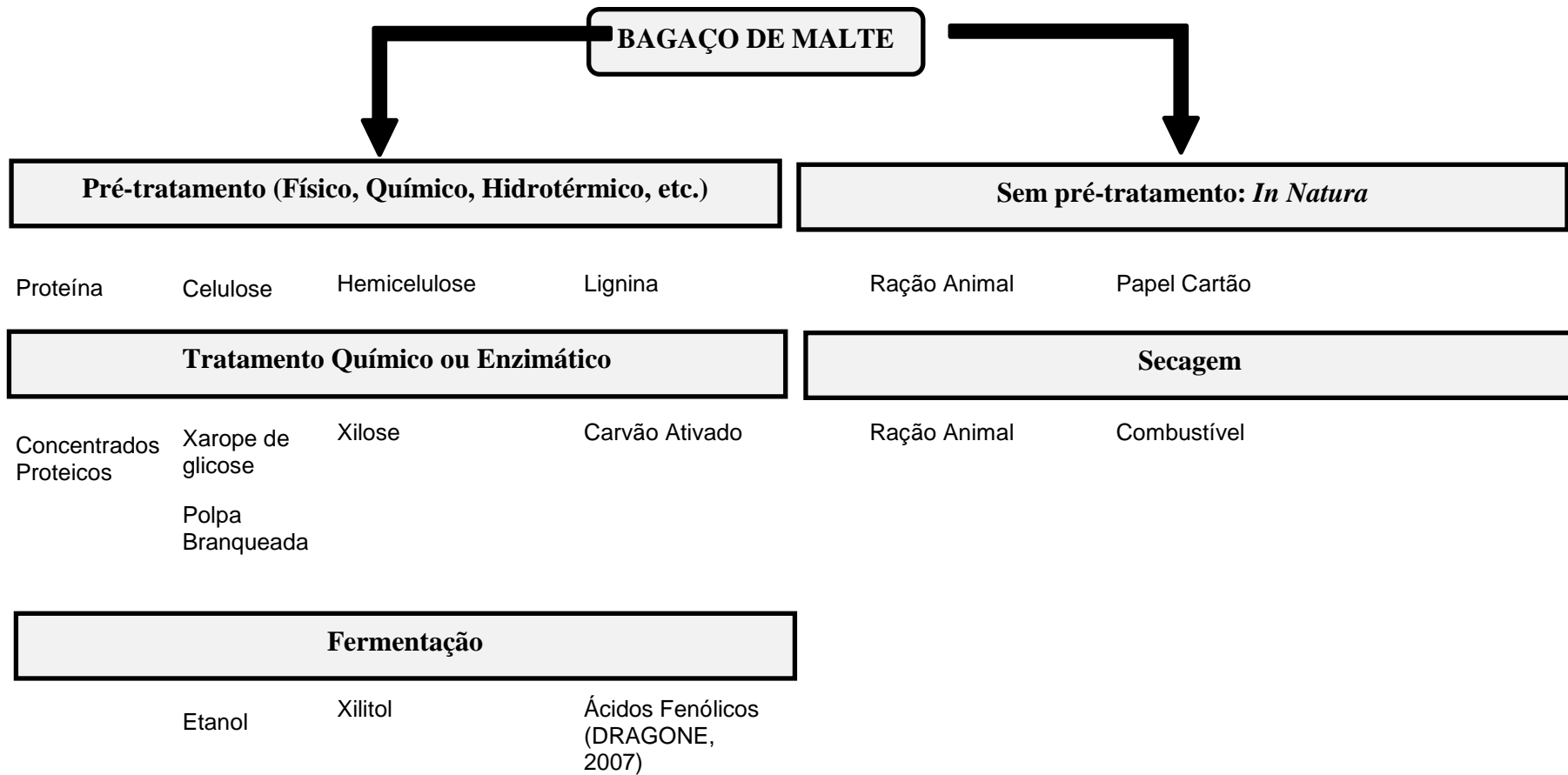
**Quadro 5** Composição química do bagaço de malte  
**Fonte:** Adaptado de DRAGONE, 2007

O bagaço de malte deixa o processo cervejeiro com cerca de 80% de umidade, sendo enviado para o silo de bagaço, localizado no setor de subprodutos da cervejaria. Atualmente, a principal destinação do bagaço de malte é para alimentação animal. As principais cervejarias do Brasil vendem o subproduto do processo cervejeiro para intermediários que transportam o bagaço para os consumidores finais. Diversas vezes por dia, caminhões de intermediários são abastecidos para o transporte até às fazendas próximas. O bagaço de malte não pode ser enviado para localidades distantes, pois é altamente suscetível à contaminação microbológica, devido ao alto teor de umidade e carga orgânica.

Para atingir mercados mais distantes, seria necessária uma etapa de estabilização do bagaço, cujo método mais estudado é a secagem da biomassa. Existem diversos tipos de secadores, como por exemplo: secador de esteira, tambor rotativo e *spray dryer*. Em algumas regiões, o alto consumo energético e o custo do equipamento dificultam a viabilidade econômica do projeto, considerando a venda do material seco para ração animal ou biomassa energética. Uma possibilidade para viabilidade da secagem seria a venda do bagaço seco para fins mais nobres, extraindo os seus compostos de interesse.

O desenvolvimento de processos biotecnológicos no conceito de biorrefinaria é uma oportunidade explorada pelas grandes companhias de cerveja atualmente. A produção de bagaço de malte no Brasil chega a cerca de 1 milhão de toneladas por ano, aproximadamente 0,5% quando comparada com a produção de bagaço a partir da cana-de-açúcar. Ainda assim, por ser nobre de composição, tem diversas aplicações biotecnológicas possíveis. O esquema mostrado na **Figura 10** apresenta potenciais aplicações do bagaço descritas na literatura.





**Figura 10** Possíveis rotas de aplicação do bagaço de malte

### 4.3.2 Levedura residual

Na etapa de maturação, após a fermentação, ocorre a precipitação da levedura e outros compostos que causariam turbidez na cerveja. A retirada da levedura é necessária para evitar a autólise, que liberaria compostos indesejados no produto. A levedura é retirada através de drenos no fundo do reator.

Algumas cervejarias reutilizam os microrganismos para novas fermentações, até cinco vezes, de forma que não influencie na qualidade do produto. Quando a levedura não pode ser mais reutilizada, o conteúdo de levedura residual é retirado e enviado para o tanque de autólise ou para o sistema de secagem. Se comercializada na forma úmida, a levedura é estocada em silos para ser vendida para alimentação animal. Se na forma seca, são enviadas para as plantas de secagem, que são equipadas com um tanque de armazenamento, secador (nas cervejarias, são do tipo *drum dryer*) e empacotamento. A levedura seca é empacotada em sacos de 25 kg e vendida para indústria de animal *pet* (**Figura 11**).



**Figura 11** Levedura seca vendida pelas cervejarias

Fonte: <http://www.grupoullmann.com.br/levedura-seca-tipo-2.php> (Acesso em 28 de março 2018)

A levedura residual tem compostos interessantes para diversas indústrias. O **Quadro 6** apresenta os principais compostos da levedura em base seca.

Parâmetro	Composição típica
Umidade	<b>Máx. 6,0%</b>
Proteína Bruta	<b>Mín. 32,0%</b>
Cinzas	<b>Máx. 8,0%</b>
pH	<b>Mín. 5,0</b>
Extrato Etéreo	<b>0,53%</b>
Fibra Bruta	<b>0,81%</b>
Carboidratos	<b>43,0%</b>
Tamanho médio de partícula	<b>Mesh 60,0</b>

**Quadro 6** Composição média da levedura seca da cervejaria.

**Fonte:** <http://www.grupoullmann.com.br/levedura-seca-tipo-2.php> (Acesso em 28 de março 2018)

Um grande potencial observado nas leveduras residuais é a extração da parede celular e extrato de levedura. O extrato de levedura é rico em proteínas e pode ser aplicado como suplemento para alimentação humana e animal. A parede celular contém a  $\beta$ -glucana, que é uma molécula utilizada para alimentação animal e tem potencial aplicação para indústria cosmética e farmacêutica, como antioxidante (ZHU, F., DU, B., e XU, B., 2016).

#### **4.3.3 Trub**

Como citado anteriormente, na etapa da cocção ocorre a formação do resíduo denominado *trub*. As partículas presentes no mosto quente fervido (*trub* quente ou *hot break*) são relativamente grandes – 20 a 80  $\mu\text{m}$ . Algumas cervejarias também removem o sólido precipitado após o resfriamento do mosto a 60°C (*trub* frio ou *cold break*) pela possibilidade de gerar efeitos no sabor da cerveja e redução na eficiência da fermentação (PRIEST E STEWART, 2006).

Atualmente, o *trub* é adicionado aos silos do bagaço de malte ou levedura úmida e vendido para formulação de ração animal. O seu sabor amargo não é desejado pelo

gado, porém a proporção em relação ao bagaço é pequena e não altera o sabor final da ração animal. Atualmente não tem muitos estudos para esse subproduto rico em proteína e polifenóis, potencialmente aplicados na indústria cosmética e farmacêutica.

#### **4.3.4 Terra Diatomácea**

A terra diatomácea é um material proveniente de fósseis de algas marinhas diatomáceas, que possui uma camada de silicatos. A composição mineral da terra depende de alguns fatores, como origem, tempo de formação e tipo de alga que foi depositada para a formação do produto. Devido à sua grande área superficial (excessiva porosidade), é utilizada como agente filtrante na etapa de filtração da cerveja, sendo, atualmente, o método de filtração mais efetivo usado na indústria da cerveja. A filtração convencional com terra diatomácea utiliza de 1 a 2 gramas do agente filtrante por litro de cerveja clarificada. Durante a filtração, é retido material orgânico, principalmente levedura, proteínas e polifenóis, gerando uma torta com no mínimo três vezes mais massa inicial. A terra não pode ser reutilizada para nova filtração após sua saturação (BRIGGS *et al.*, 2004; FILLAUDEAU *et al.*, 2006).

O potencial para recuperação da terra diatomácea foi abordado em alguns trabalhos, utilizando métodos de tratamento químico ou calcinação para remover a matéria orgânica e sólidos suspensos, para liberar os poros. Atualmente, o agente filtrante não é reutilizado na indústria cervejeira, devido às dificuldades técnicas e aos riscos de contaminação no processo cervejeiro. A terra é rapidamente degradada devido ao seu alto teor de umidade, cerca de 70%, e sua composição química rica, fatores que dificultam o seu armazenamento sem prévio tratamento.

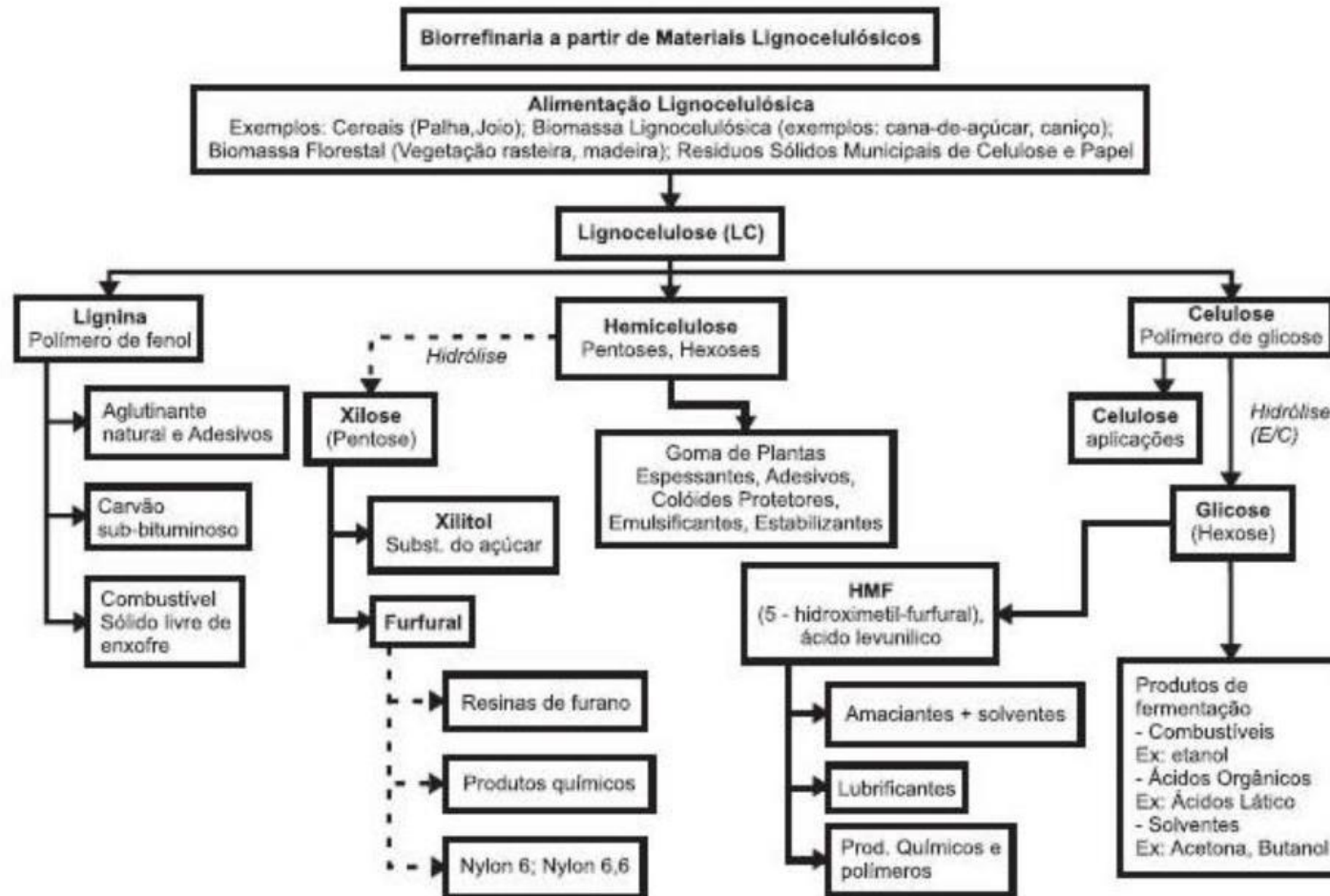
Devido à alta carga orgânica, a disposição final da terra diatomácea no meio ambiente é difícil e, geralmente, é enviada para aterros com custos significativos. A terra sem pré-tratamento pode ser misturada ao solo como fonte de matéria orgânica (BRIGGS *et al.*, 2004). O agente filtrante quando calcinado pode ser utilizado para recuperar o silicato e utilizado como matéria-prima na indústria de cimento.

#### 4.4 CONCEITO DE BIORREFINARIA

O conceito de biorrefinaria é definido como instalações, equipamentos e processos que utilizam biomassa e seus resíduos, fontes renováveis e de baixo valor agregado para produção de produtos com maior valor agregado e de interesse industrial, como produtos químicos, alimentícios, combustíveis e energia (BASTOS, 2007). O principal objetivo da introdução do conceito de biorrefinaria é a maximização do valor da biomassa e aumento da receita da indústria, além do apelo ambiental.

Apesar das biorrefinarias industriais representarem rotas promissoras para criação e novo conceito de indústria baseada em fontes renováveis, atualmente, existem poucas plantas de biorrefinaria em escala industrial. Esse cenário pode ser atribuído ao tempo de desenvolvimento para tecnologias de extração de compostos da biomassa que têm características diferentes de acordo com a sazonalidade, além dos altos investimentos financeiros e tecnológicos requeridos.

A biorrefinaria a partir de compostos lignocelulósicos, geralmente, utiliza um conjunto de fontes de biomassa para produção de diferentes produtos através de diversas tecnologias. Tal refinaria utiliza três frações básicas como matéria prima – celulose, hemicelulose e lignina. A **Figura 12** representa alguns produtos que podem ser obtidos a partir de material com composição lignocelulósica.



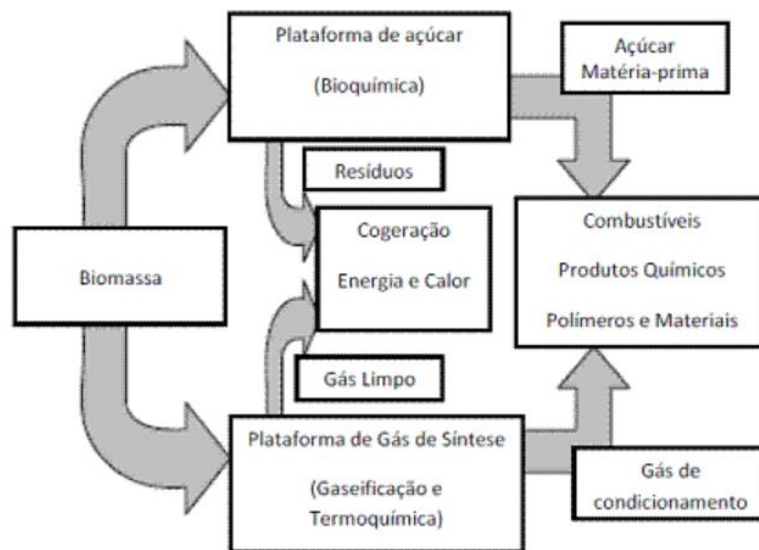
**Figura 12** Possíveis produtos obtidos a partir do material lignocelulósico no conceito de biorrefinaria.

Fonte: KAMM *et al.*, 2006

A utilização da matéria-prima de composição lignocelulósica dentro do contexto de biorrefinaria pode ser apresentada em duas plataformas distintas, ilustradas na Figura 13, que visam fornecer “blocos de construção” para obtenção de diversos produtos (PEREIRA JR. *et al.*, 2008).

A plataforma termoquímica é baseada na conversão termoquímica pela reação da biomassa em altas temperaturas com disponibilidade de oxigênio controlada (gaseificação) para formação de gás de síntese ou, na ausência do oxigênio (pirólise), para produção de bio-óleo.

A plataforma de açúcar, ou sucroquímica, é baseada na conversão química e bioquímica dos açúcares extraídos da biomassa com a separação dos componentes principais. Para isso, o pré-tratamento da biomassa antes da hidrólise enzimática é importante para aumentar a disponibilidade desses açúcares ao ataque enzimático.



**Figura 13** Conceito da Biorrefinaria em duas plataformas.  
**Fonte:** KAMM *et al.*, 2006

Embora a biomassa de composição lignocelulósica tenha um grande potencial, a realidade de operações de biorrefinaria envolvem muitos desafios. Recentemente, diversas tecnologias têm sido estudadas para melhorar o processo de conversão, porém, o principal objetivo é tornar o sistema financeiramente competitivo.

A utilização da biomassa de composição lignocelulósica em processos microbiológicos apresentam duas dificuldades em seu processamento. A estrutura cristalina da celulose, altamente resistente à hidrólise e associada à lignina, forma uma barreira física que impede o acesso enzimático ou microbiológico ao substrato. As técnicas de pré-tratamento podem minimizar essas características, porém aumentam o custo de operação. Outro obstáculo é que as condições severas da hidrólise ácida da celulose levam à destruição de parte do carboidrato e à formação de compostos tóxicos aos microrganismos.

Outro desafio das biorrefinarias é a necessidade de processos de conversão mais eficientes, robustos e baratos. Focado em reduzir o custo das enzimas, estão sendo desenvolvidos métodos de reutilização das enzimas no processo (IYER and ANANTHANARAYAN, 2008).

#### **4.4.1 Material de composição lignocelulósico**

Os materiais lignocelulósicos são compósitos fibrosos, formados por matrizes complexas constituídas de celulose (rígido polímero de glicose), hemicelulose e lignina. Esses compostos são encontrados na biomassa vegetal, termo usado para designar matérias orgânicas produzidas, tanto pelas espécies vegetais, como por seus resíduos. Por se tratar de uma biomassa, sua origem natural faz com que a proporção desses componentes seja muito variável. O **Quadro 7** apresenta a composição lignocelulósica de diferentes biomassas.



Componente (%)	Bagaço de malte	Bagaço de cana	Casca de arroz	Casca de aveia	Palha de arroz	Palha de cana	Palha de milho
<b>Celulose</b>	16,8	36	38	31	43	36	36
<b>Hemicelulose</b>	28,4	28	20	29	22	21	28
<b>Lignina</b>	27,8	20	19	23	17	16	29

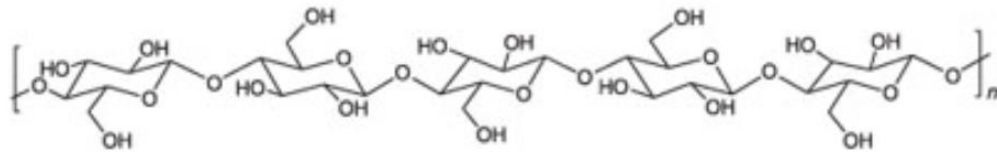
**Quadro 7** Composição lignocelulósica de diferentes biomassas  
**Fonte:** Adaptado de Dragone, S.M. (2007) e Castro, A.M. (2006)

Além das fibras, outros compostos podem ser encontrados nos materiais lignocelulósicos, podendo ser classificados em: matérias solúveis em água (não extrativos) – compostos inorgânicos – e matérias solúveis em compostos orgânicos – graxas, ceras e fenóis.

#### 4.4.1.1 Celulose

A celulose é um polímero linear de glicose com alta massa molecular formado por ligações  $\beta$ -1,4-glicosídica, insolúveis em água. A celobiose, um dissacarídeo, é a unidade repetida no polímero. A principal diferença entre o amido e a celulose é o tipo de ligação entre as unidades de glicose; no amido são encontradas somente ligações tipo  $\alpha$ , o que diminui sua cristalinidade e resistência em relação à celulose. Esse polímero pode ser muito longo, com o número de unidades de glicose na molécula de celulose variando entre 15 e 15.000, a depender do tipo de vegetal, tendo um valor médio de 3.000 unidades.

A molécula de celulose pode ter áreas amorfas e cristalinas. Na região amorfa, as estruturas são flexíveis, enquanto nas regiões cristalinas a estrutura é rígida e inflexível. A **Figura 14** representa a molécula de celulose presente na estrutura lignocelulósica.



**Figura 14** Esquema da molécula de celulose.  
**Fonte:** SANTOS *et al.* (2012)

A celulose quando separada dos outros componentes do material lignocelulósico apresenta alta reatividade devido à sua estrutura química e física. Os grupos hidroxilas da celulose são suscetíveis às seguintes reações:

✓ Reação de adição

Reagem com diferentes compostos resultando em celuloses alcalinas, ácida, amoniacaís, entre outras.

✓ Reação de substituição

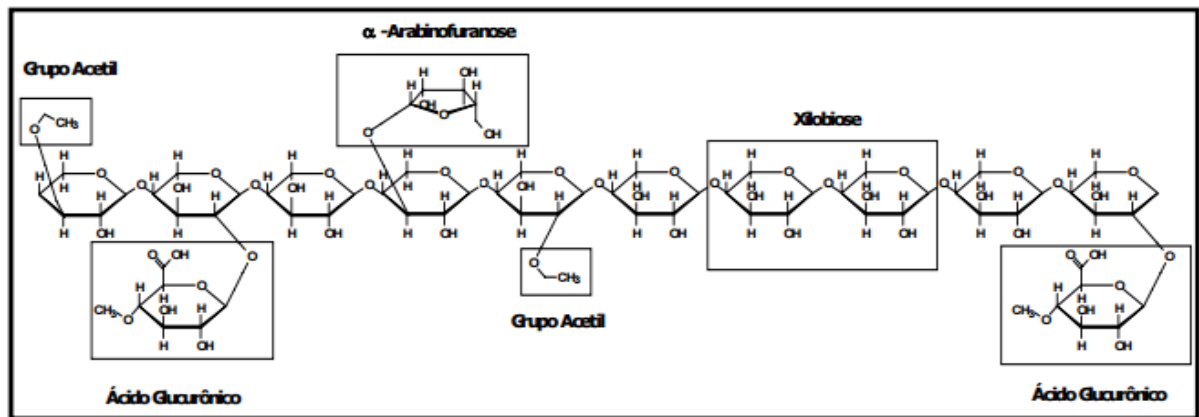
As hidroxilas podem ser eterificadas ou esterificadas para produzir compostos de interesse comerciais como nitrato de celulose e xantatos - ésteres de celulose- e carboximetilcelulose e hidroximetilcelulose – éteres de celulose.

✓ Reação de degradação (hidrólise)

Cisão da ligação  $\beta$ -1,4-glicosídica da molécula de glicose. O rompimento dessa ligação resulta em monômeros de glicose.

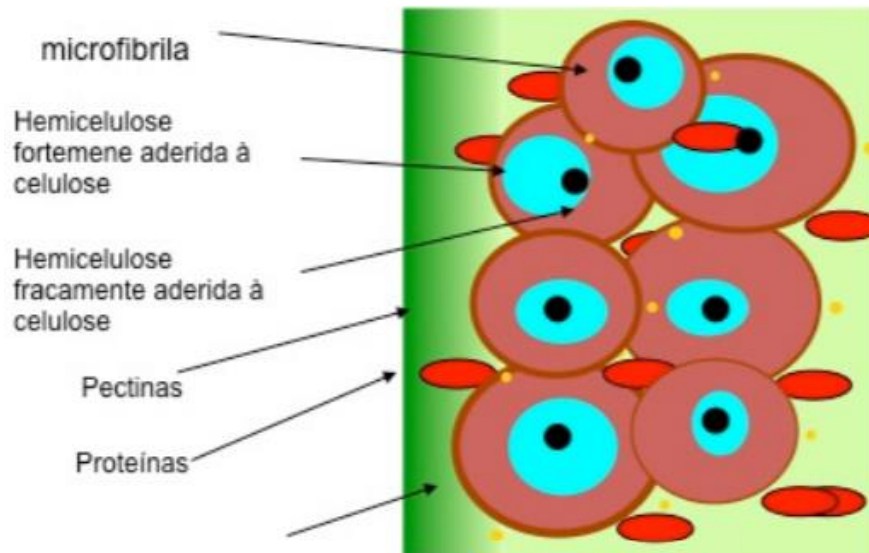
#### 4.4.1.2 Hemicelulose

A hemicelulose é um composto polissacarídico constituído por diferentes tipos de açúcares, tais como xilose, manose, glicose e galactose. É associada à celulose nos tecidos vegetais, e juntas representam o material carbônico mais abundante nas plantas. Diferente da celulose, a estrutura da hemicelulose não apresenta alta cristalinidade. Dessa forma, são mais suscetíveis a hidrólise química em condições mais amenas. A **Figura 15** representa a estrutura da molécula de hemicelulose.



**Figura 15** Esquema da molécula de hemicelulose.  
**Fonte:** VÁSQUEZ, 2007.

Para melhor visualização dessa estrutura, a **Figura 16** mostra, de forma ilustrativa, as paredes celulares de materiais lignocelulósicos ricos em arabinoxilano.



**Figura 16** Estrutura da parede celular de materiais lignocelulósicos  
**Fonte:** Adaptado de Buckeridge *et al*, 2008

No **Quadro 8** são mostradas as principais diferenças entre a estrutura celulósica e hemicelulósica.

Celulose	Hemicelulose
Consiste em unidades de glicose ligadas entre si	Consiste em diferentes unidades de açúcares ligadas entre si
Grau de polimerização elevado (1.000 – 1.500)	Grau de polimerização baixo (50 a 300)
Forma arranjo fibroso	Não forma arranjo fibroso
Forma regiões amorfas e cristalinas	Forma somente regiões amorfas
Atacada lentamente por ácido inorgânico diluído quente	Atacada rapidamente por ácido inorgânico diluído quente: facilita remoção por tratamento químico
Insolúvel em álcali	Solúvel em álcali

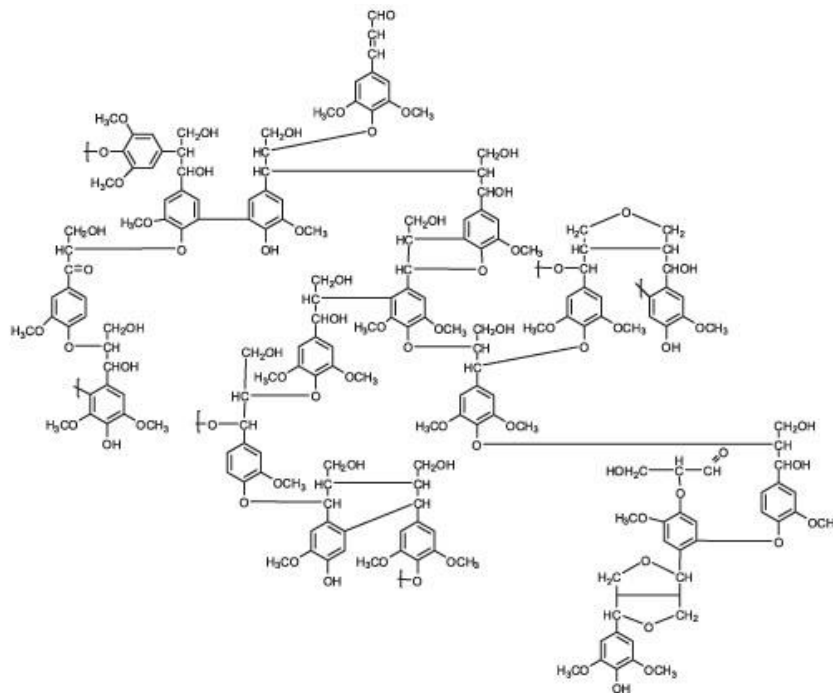
**Quadro 8** Lista de diferenças entre celulose e hemicelulose.

**Fonte:** Adaptado de COUTO, 2002

#### 4.4.1.3 Lignina

A lignina é um polifenol de unidades fenil-propana ( $C_6 - C_3$ ) sendo considerado um dos materiais mais resistentes da natureza. A lignina confere rigidez às fibras lignocelulósicas, pois é associada à celulose e hemicelulose, impedindo a degradação das mesmas. A

**Figura 17** representa a molécula de lignina do eucalipto.



**Figura 17** Esquema da molécula de lignina do eucalipto.  
**Fonte:** SANTOS *et al.*, 2012

#### 4.4.2 Pré-tratamento da lignocelulose

O pré-tratamento da biomassa é uma etapa importante na conversão do material lignocelulósico em açúcares, químicos e combustíveis. O aumento na acessibilidade das enzimas à fração celulósica é devido à remoção da fração hemicelulósica e da remoção parcial da lignina (lignina solúvel em ácido), causando uma pequena abertura na matriz (PEREIRA JUNIOR; COUTO; SANT'ANNA, 2008).

Os pré-tratamentos podem ser divididos em quatro tipos: físico (cominuição do material através de fragmentação ou moagem); físico-químico (explosão a vapor, catalisado ou não); químico (hidrólise ácida em condições amenas, deslignificação por ozonólise ou oxidação); e biológica (microbiana ou enzimática) (MC MILLAN, 1994; SUNG e CHENG, 2002, *apud* PEREIRA JUNIOR; COUTO; SANT'ANNA, 2008).

Devido à natureza heterogênea do material lignocelulósico, não é possível escolher apenas um melhor pré-tratamento. A escolha depende de alguns fatores, como por exemplo:

- ✓ Baixo custo;
- ✓ Possibilidade de ser utilizado em escala industrial;
- ✓ Aplicação em diversos materiais lignocelulósicos;
- ✓ Menor complexidade;
- ✓ Recuperação dos componentes;
- ✓ Fornecer fração celulósica para ser convertido em glicose.

A celulose não é suscetível a tratamentos ácidos e térmicos isolados, porém essas técnicas podem ser utilizadas para aumentar a disponibilidade de seus polissacarídeos à ação das enzimas na hidrólise enzimática. A hidrólise enzimática utilizando celulase e hemicelulase é inibida pela estrutura complexa e cristalinidade do material lignocelulósico (WHITE; YOHANNAN; WALKER, 2008).

A decisão do processo a ser utilizado depende do tipo de matéria-prima empregada. Existem diferentes tipos de tratamentos ácidos com bons resultados para conversão da celulose em glicose. Uma alternativa de pré-tratamento é a utilização de água em altas temperaturas, sem adição de catalisadores, chamado de processo hidrotérmico.

#### 4.4.2.1 Pré-tratamento hidrotérmico

O pré-tratamento hidrotérmico consiste na solubilização da hemicelulose com alta taxa de recuperação de pentoses, principalmente xilo-oligossacarídeos. Nesse processo, a água em alta temperatura, cerca de 200°C, tem pH ácido, devido ao ácido acético liberado da clivagem dos grupos acetis da cadeia de xilanas (hemicelulose) (FENGEL e WENGELS, 1985), agindo como catalisador da reação de rompimento da estrutura da biomassa lignocelulósica.

A vantagem do tratamento hidrotérmico é a possibilidade de utilização de toda biomassa no contexto da biorrefinaria, devido à recuperação quase total da lignina e celulose na fração sólida (CARVALHEIRO *et al.*, 2009), além de poder ser aplicado para geração de produto com grau alimentício, devido à baixa formação de produtos tóxicos no meio.

O processo hidrotérmico também pode ser considerado uma autohidrólise das ligações lignocelulósicas na presença dos íons H<sup>+</sup> gerados a partir da água e dos

grupos acéticos liberados da fração hemicelulósica. O íon  $H^+$  produzido pela água ionizada age melhor como catalisador em alta concentração e alta temperatura do que água líquida em temperatura ambiente, fornecendo um meio eficaz para a hidrólise ácida (AKIYA; SAVAGE, 2002). Na reação de hidrólise, ocorre a formação de subprodutos no hidrolisado, como furfural e hidroximetilfurfural (HMF). A presença de furfural em baixa concentração não é impactante e este pode ser removido facilmente do hidrolisado por evaporação.

Segundo Carvalheiro (2009), o hidrolisado oriundo da autohidrólise é rico em oligossacarídeos derivados da hemicelulose, formados por unidades de xilose e possíveis oligossacarídeos derivados da arabinose. Os glucoligossacarídeos também estão presentes na fração líquida após a hidrólise. Apesar da etapa de lavagem na cervejaria para retirar o extrato residual do bagaço de malte, é esperado que uma parte deste ainda permaneça no material e seja responsável pelo aumento da concentração de glucoligossacarídeos no hidrolisado. Durante a autohidrólise, os monossacarídeos também são produzidos via clivagem hidrolítica dos oligossacarídeos.

Na fração sólida, após o processo hidrotérmico, verifica-se a presença de glucana, xilana, arabinose, lignina e proteína. A recuperação da glucana no sólido pode chegar a 78,7 g de glucana em 100 g do polímero no material sem tratamento. No processo também ocorre mudança física no material, devido à alta pressão envolvida, que aumenta a taxa de hidrólise enzimática. Além da redução da cristalinidade e ligação com a lignina, ocorre aumento no tamanho do poro, o que facilita a difusão da enzima (CARVALHEIRO *et al.*, 2009).

O pré-tratamento da biomassa é, em geral, capaz de produzir hidrolisados com baixo nível de inibidores e alto nível de sólidos digestíveis. Como não é necessário o uso de ácido como catalisador, o método não apresenta problemas de corrosão e reciclo e disposição de produtos químicos.

Além do pré-tratamento hidrotérmico, existem outras tecnologias de pré-tratamento sendo estudadas que não serão abordadas no presente trabalho.

#### 4.4.2.2 Fatores que influenciam no pré-tratamento

Os mecanismos que envolvem o pré-tratamento ainda não estão completamente esclarecidos e, geralmente, os projetos desses processos são feitos com bases empíricas. O principal objetivo do pré-tratamento é a abertura da matriz lignocelulósica, de forma a tornar a celulose mais acessível para a biocatálise. A escolha do pré-tratamento depende da natureza da matéria-prima ser tratada e finalidade de uso do hidrolisado. Assim, diversos fatores são essenciais para o processo (PEREIRA JUNIOR; COUTO; SANT'ANNA, 2008).

##### ✓ Binômio tempo X temperatura

Em um primeiro momento, acredita-se que temperaturas altas devem ter melhores eficiências de hidrólise. Porém, essa condição leva à degradação de açúcares livres à furfural (furfural das pentoses e hidroximetil furfural das hexoses), o que reduz a eficiência do pré-tratamento e aumenta a toxicidade do hidrolisado. Por outro lado, temperaturas baixas podem causar o mesmo efeito se realizado em um grande intervalo de tempo. De forma geral, altas temperaturas devem ser feitas em tempo menores, e vice-versa (MC MILLAN, 1994; MOSIER *et al.*, 2005, *apud* PEREIRA JUNIOR; COUTO; SANT'ANNA, 2008).

##### ✓ Tamanho da partícula

De forma geral, a eficiência do pré-tratamento com ácido diluído aumenta com o uso de partículas menores. O tamanho da partícula afeta a área superficial para a atuação posterior do agente da hidrólise, também a estrutura cristalina da celulose e seus graus de polimerização. Por outro lado, no pré-tratamento por explosão a vapor é mais conveniente a utilização de partículas maiores (CADOUCHE e LÓPEZ, 1989; LYND, 1996 *apud* PEREIRA JUNIOR; COUTO; SANT'ANNA, 2008).

##### ✓ Estrutura da molécula de celulose

A cristalinidade e o grau de polimerização da molécula de celulose estão diretamente associados à sua reatividade. Quanto menor a cristalinidade e o grau de polimerização, maior eficiência é atingida (Mc MILLAN, 1994; MOSIER *et al.*, 2005 *apud* PEREIRA JUNIOR; COUTO; SANT'ANNA, 2008).



✓ Acidez do meio

A concentração de próton é um fator importante para as reações químicas ocorridas no pré-tratamento. Mesmo em tecnologias que não façam a adição de ácido, o meio é acidificado em altas temperaturas, devido à liberação de ácidos orgânicos endógenos, principalmente ácido acético, como também, a protonação resultante da dissociação da água (LYND, 1996; MOSIER *et al.*, 2005., *apud* PEREIRA JUNIOR; COUTO; SANT'ANNA, 2008).

✓ Teor de umidade

A presença de água diminui a temperatura de degradação da lignina, facilitando a sua remoção da fibra. Além desse fator, as ligações glicosídicas da celulose e da hemicelulose são clivadas por hidrólise. No caso da hemicelulose, fração mais suscetível à hidrólise, ocorre a desacetilação e despolimerização. De forma similar, a lignina também sofre uma parcial despolimerização. A clivagem das ligações glicosídicas pode ser incrementada com o aumento da constante de desprotonação da água em altas temperaturas, o que causa a redução do pH do meio. Por exemplo, em temperatura de 220°C, o pH do meio cai para 5,6, enquanto em temperatura ambiente esse valor é de 7. Devido a esse efeito, acredita-se que, em altas temperaturas, a ação da água é mais relevante que a atuação dos ácidos orgânicos livres (LYND, 1996 *apud* PEREIRA JUNIOR; COUTO; SANT'ANNA, 2008).

A eficiência dos pré-tratamentos é uma resultante do sinergismo entre temperatura, tempo e acidez do meio. A combinação desses fatores define o “grau de severidade”, que está intrinsecamente associado à toxicidade e fermentabilidade do hidrolisado.

O grau de severidade dos pré-tratamentos, em geral, é determinado pela temperatura, tempo de residência e concentração do ácido. Como o processo hidrotérmico não é adicionado ácido, muitos pesquisadores usam a **Equação 2** para o cálculo do grau de severidade (OVEREND, CHORNET e GASCOIGNE, 1987).

$$\log(Ro) = \log\left(t * e^{\frac{T-T_{ref}}{14.75}}\right) \quad \text{Equação 2}$$

Onde,

Ro = Grau de severidade;

t = tempo de residência;

T = Temperatura;

T<sub>ref</sub> = Temperatura de referência para um caso base – geralmente, 100°C.

Geralmente, existe o grau ótimo de severidade, em que abaixo desse fator, a eficiência da hidrólise será reduzida, e acima, os açúcares serão degradados e formarão inibidores derivados da lignina (Mc MILLAN, 1994 *apud* PEREIRA JUNIOR; COUTO; SANT'ANNA, 2008).

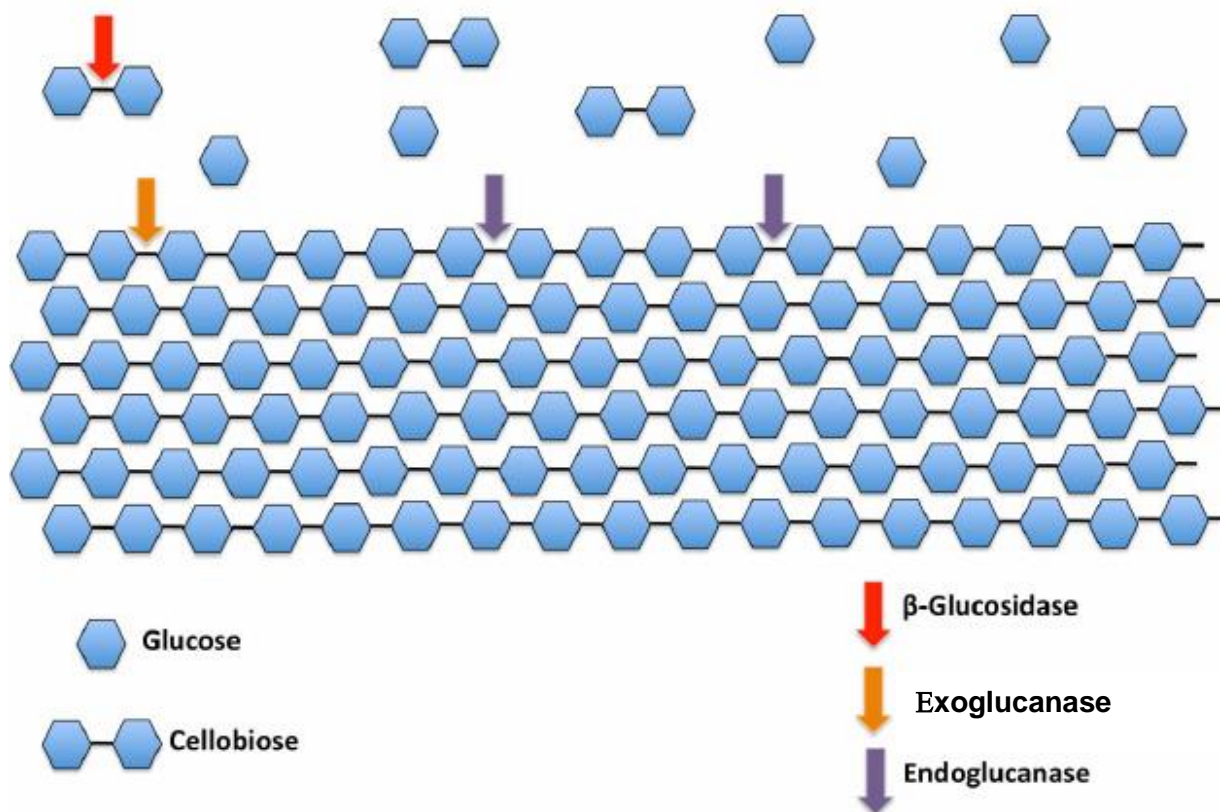
#### 4.4.3 Hidrólise enzimática da celulose

A hidrólise enzimática consiste na degradação sinérgica de componentes da biomassa utilizando um consórcio de enzimas de diferentes especialidades. A hidrólise enzimática do material lignocelulósico em monômeros de açúcar tem se tornado a mais eficiente tecnologia de conversão de biomassa. A degradação sinérgica dos componentes da biomassa é feita utilizando um consórcio de enzimas de diferentes especialidades, muitas vezes combinado com outras proteínas.

As glicosil hidrolases são identificadas com o código EC 3.2.1.X, de acordo com a Enzyme Commission (EC) da International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB), onde o X é referente à enzima de estudo (HENRISSAT, 1991). A hidrólise enzimática da celulose ocorre na presença de celulasas, enzimas específicas para essa reação. As celulasas são coquetéis de diferentes enzimas, do grupo das glicosil hidrolases, que clivam as ligações  $\beta$ -(1,4) presentes na fibra da celulose, cujos maiores grupos presentes são:

- $\beta$ -1,4-endoglucanase: também chamada de endo-1,4- $\beta$ -glucanohidrolases (EC 3.2.1.4), são enzimas que atuam nas regiões com baixa cristalinidade na fibra celulósica. Essa enzima cliva as ligações  $\beta$ -1,4 glicosídicas de forma aleatória, formando novas cadeias menores.
- $\beta$ -1,4-exoglucanase ou celobiohidrolase (EC 3.2.1.91): atuam nas extremidades reductoras ou não-reductoras das cadeias de celulose, liberando celobiose ou glicose.
- $\beta$ -glucosidade ou celobiase (EC 3.2.1.21): hidrolisa a celobiose para a produção de glicose.

A ação enzimática é representada na **Figura 18**.



**Figura 18** Esquema da molécula de lignina do eucalipto.  
**Fonte:** SOUZA, 2013

A atividade catalítica da celulase pode ser medida através da diminuição da viscosidade do meio, devido à diminuição da massa molar média da celulose ou derivados da celulose.

Além da escolha do coquetel enzimático, a relação sólido/líquido é um fator importante para a análise da eficiência da hidrólise. Segundo White (2008), a eficiência da hidrólise enzimática é menor em maiores concentrações de sólido, resultando em menores quantidades de açúcar produzido por sólido adicionado.

As principais vantagens de tratar a celulose com hidrólise enzimática são: Condições moderadas de pressão, temperatura e pH; alta especificidade; baixo consumo de energia; menor custo com material de construção dos equipamentos quando comparado ao processo de hidrólise ácida.

Pode ocorrer também a hidrólise enzimática da lignina e hemicelulose, com a geração de açúcares e subprodutos (principalmente, difenóis, derivados de fenilpropano, cetonas, furfural e ácido acético), que muitas vezes inibem a fermentação.

Com base nos dados da literatura apresentados nesse capítulo, o bagaço de malte apresenta características interessantes para sua utilização, no conceito de biorrefinaria, para obtenção de xarope de glicose. Nos próximos capítulos, serão abordados a análise econômica e prova de conceito do projeto do uso do resíduo para produção do concentrado de glicose.

## 5 ESTUDO DE CASO

A combinação do conceito de biorrefinaria para obtenção de produtos com alto valor agregado com o elevado apelo de sustentabilidade e a riqueza de nutrientes ainda presentes no bagaço de malte, apontam para seu grande potencial de aplicação. Somando-se, ainda, a grande quantidade de resíduo gerado por ano, torna-se clara a possibilidade da avaliação do bagaço de malte como matéria-prima do modelo de biorrefinaria proposto.

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA EMPRESA ALVO

A Companhia de Bebida das Américas, Ambev, é uma sociedade anônima brasileira, de capital aberto, produtora de bens de consumo. O grupo é reconhecido pela forte gestão do trabalho e da produção; ao mesmo tempo busca destacar-se no que se refere à inovação e desenvolvimento de tecnologia de produção de bebidas. Atualmente, a Ambev tem operações em 16 países: Brasil, Canadá, Argentina, Bolívia, Chile, Paraguai, Uruguai, Guatemala, República Dominicana, Cuba, Panamá, Barbados, Nicarágua, Saint Vincent, Dominica e Antigua.

#### 5.1.1 História da empresa alvo

A empresa é resultado da fusão entre a Companhia Antarctica Paulista Indústria Brasileira de Bebidas e Conexos (“Antarctica”) e da Companhia Cervejaria Brahma (“Brahma”), ocorrida em 2 de julho de 1999.

- História da Companhia Antarctica Paulista

A história da Antarctica começa em 1885 com um grupo formado por industriais paulistas no bairro Água Branca, em São Paulo, onde futuramente seria instalada a matriz da Companhia Antarctica Paulista. Neste momento, era produzido gelo e produtos alimentícios. A empresa começa a produzir cervejas em 1889. Em 1914, a Antarctica lançou a Água Tônica Antarctica, bebida não alcoólica a partir de Quinino, e em 1921, o Guaraná Champagne Antarctica. A Companhia Adriática, do Paraná, é adquirida pela empresa, sendo sua principal marca a Cerveja Original, produzida desde 1930. Outro marco importante na história da Antarctica, foi a compra, em 1961, da Cervejaria Bohemia, primeira cervejaria do Brasil, fundada em 1853.

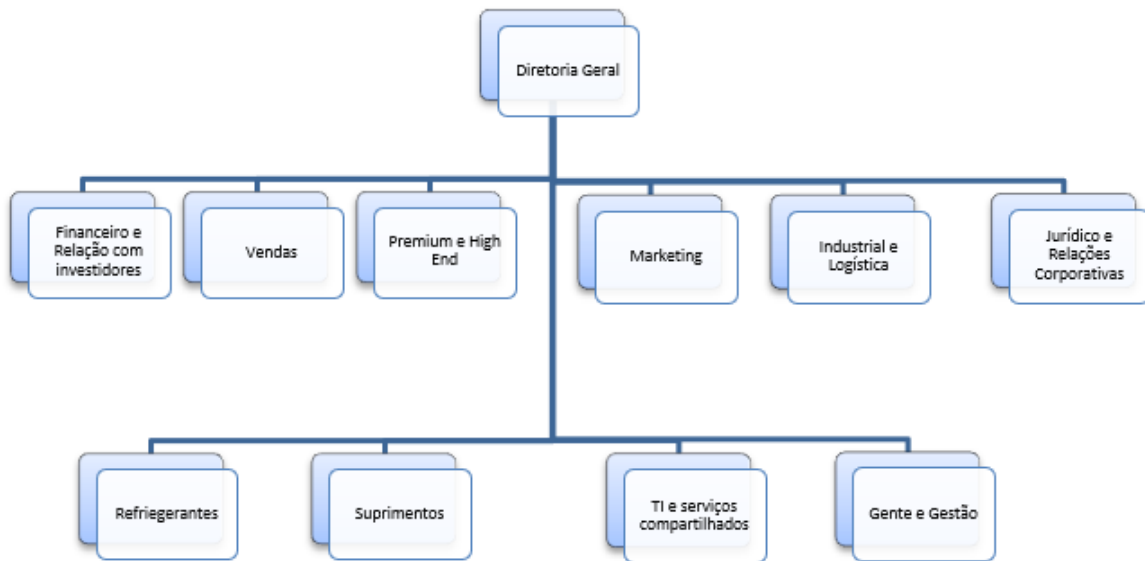
- História da Companhia Cervejaria Brahma

Em 1888, o suíço Joseph Villiger estabelece uma pequena instalação, chamada de Manufactura de Cerveja Brahma & Villiger & Companhia, na rua Visconde de Sapucaí, no Rio de Janeiro. A empresa lança seis refrigerantes em 1918, Água de Meza, Crystal, Ginger-Ale, Berquis, Soda Limonada Especial, Soda Limonada e High Life. Em 1934, a Brahma Chopp é uma das principais cervejas do país com produção de 30 milhões de litros de cerveja, e em 1943, a Brahma Extra é lançada. Em 1980, a empresa adquire o controle acionário das Cervejas Reunidas Skol Curacu S.A., fabricante da cerveja Skol desde 1967. Em 1989, o Grupo Garantia compra o controle acionário da cervejaria, marcando o início de uma nova fase da história da cervejaria.

Após a fusão das duas empresas, a Ambev tornou-se a terceira maior indústria cervejeira e quinta maior produtora de bebidas do mundo. Em 2004, a Ambev se junta à Interbrew, formando a Inbev. Após a compra da cervejaria americana Anheuser-Bush, em 2008, a multinacional Belgo-Brasileira AB Inbev passa a controlar quase metade do mercado de cervejas no Estados Unidos. Em 2015, a Cervejaria Wals e a Cervejaria Colorado passam a fazer parte da Ambev. A aquisição mais recente da empresa é a Do Bem, marca de sucos e chás, iniciando uma nova fase de sua história, que passa a atuar no setor de sucos.

### 5.1.2 Estrutura da empresa

A estrutura acionária da Ambev é composta por 61,9% da Anheuser-Busch InBev, 10,2% da Fundação Zerenner e 27,9% do mercado aberto. A empresa é dividida de acordo com a estrutura apresentada na **Figura 19**.



**Figura 19** Estrutura de áreas da empresa Ambev

**Fonte:** [http://ri.ambev.com.br/conteudo\\_pt.asp?idioma=0&conta=28&tipo=43215](http://ri.ambev.com.br/conteudo_pt.asp?idioma=0&conta=28&tipo=43215) (Acessado em 19 de Setembro de 2018)

### 5.1.3 Áreas diretamente responsáveis pelo estudo

O estudo envolve duas áreas da empresa, o Centro de Inovações e Tecnologia e a Cervejaria Nova Rio.

- CENTRO DE INOVAÇÕES E TECNOLOGIA DA AMBEV

O Centro de Inovação e Tecnologia (CIT) da Ambev fica localizado no Parque Tecnológico, na Cidade Universitária, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. O centro de pesquisa possui aproximadamente 15 mil m<sup>2</sup>, cerca de 80 funcionários, sendo mais de 10 cervejeiros. A unidade é responsável pelo desenvolvimento de tecnologia e produtos do setor de alcoólicos e não alcoólicos do Brasil, Guatemala, República Dominicana, Saint Vicente, Dominicana, Cuba, Barbados e Panamá.

O líder do projeto é responsável pelo desenvolvimento, englobando as pesquisas preliminares, a elaboração do Plano de Negócio, a realização dos testes para prova de conceito em escala de laboratório e a adequação dos parâmetros em escala

piloto, a aquisição dos equipamentos e os testes industriais e acompanhamento das primeiras produções.

- **CERVEJARIA NOVA RIO**

O estudo de caso foi desenvolvido para implantação da planta de produção do xarope de glicose a partir do bagaço de malte na cervejaria Nova Rio - Ambev (Campo Grande, Rio de Janeiro). A unidade foi inaugurada em 1996 e logo se tornou a maior da Ambev no Brasil e uma das maiores do mundo. Atualmente, possui cerca de 1100 funcionários diretos e são produzidos os rótulos Antarctica, Skol, Brahma e Bohemia.

## 5.2 DESENVOLVIMENTO

### 5.2.1 Obtenção de dados de geração de resíduos

Os dados de produção anual de bagaço e o preço de venda aplicado foram obtidos a partir de informações disponibilizadas pela empresa e dados da literatura.

- **Produção anual de bagaço pela unidade Nova Rio**

O cálculo da quantidade estimada de bagaço de malte gerado pela Ambev no ano de 2017 foi baseado na quantidade total de cerveja produzida pela empresa no mesmo ano, considerando que a unidade Nova Rio produziu cerca de 8% do volume total. Estima-se que 10 kg de bagaço de malte são gerados por cada hectolitro de cerveja produzida. O cálculo foi feito com base o relatório interno de “Resultados Consolidados”, emitido pela Ambev em cada trimestre do ano de 2017 (o ano de 2018 ainda não foi divulgado).

O volume total de cerveja produzido em 2017 foi de 80.233.600 hectolitros. O volume de cerveja produzido no 2º e 3º trimestres são inferiores ao 1º e 4º, isso é relacionado ao menor consumo do produto nas épocas mais frias do ano. Esse fator será desconsiderado no estudo, pois a análise é baseada na produção anual do bagaço de malte. Considerando que 14 kg de bagaço de malte são gerados para cada hectolitro de cerveja, a quantidade de bagaço gerado pela companhia em 2017



foi de 1.123.270,4 toneladas, com aproximadamente 80% de umidade. Dessa forma, são geradas 224.654,1 toneladas de matéria seca por ano.

A cervejaria Nova Rio representa 8% da produção e, portanto, pode-se considerar 8% do bagaço de malte gerado, resultando em 89.862 toneladas e 17.972,3 toneladas do resíduo seco por ano.

- Preço de venda e receita total gerada pela venda do bagaço de malte

O preço do bagaço de malte vendido pela empresa foi determinado considerando o preço de venda divulgado por intermediários no site MFRURAL, sendo considerado o desconto do custo de frete. A receita total gerada pela venda do bagaço de malte para a empresa foi calculada com base no volume anual gerado e no preço do sub-produto por tonelada.

O preço do bagaço de malte no mercado, segundo site de venda e compra de produtos para agronegócio, é de R\$ 175,00 por tonelada (MFRURAL, 2018). Porém, esse preço é o valor cobrado pelo intermediário ao consumidor final. Para entender o valor gerado de receita para a cervejaria, é necessário subtrair o valor de frete cobrado pelo intermediário e, dessa forma, chegou-se ao valor de venda do bagaço de malte. O intermediário normalmente cobra R\$ 1.500,00 por viagem e seu caminhão tem capacidade de 10-15 toneladas (Ambev, 2018); dessa forma, o valor pago ao intermediário representa R\$ 100,00 por tonelada. Assim, pode ser concluído que o valor de venda do bagaço de malte praticado pela cervejaria para o intermediário é de R\$ 75,00 por tonelada (**Tabela 1 Resumo dos valores médios do bagaço de malte**).

Divisão do valor do bagaço de malte	Valor (R\$/ton)
Preço de venda ao consumidor final	175
Valor do frete – serviço cobrado pelo intermediário	100
Preço de venda ao intermediário	75

**Tabela 1** Resumo dos valores médios do bagaço de malte  
**Fonte:** MFRURAL(2018); Ambev (2018).

Baseado nos dados apresentados anteriormente, a receita da venda do bagaço de malte gerada pela Nova Rio vendida como ingrediente da ração animal, atualmente, é R\$ 6.739.622,4 por ano. Um dos desafios da cervejaria é aumentar a receita a partir de subprodutos com o desenvolvimento de novas tecnologias para sua conversão em insumos para utilização interna, para utilização de outras indústrias, ou, até mesmo, para consumidores finais. Para a implementação de novas tecnologias, são necessárias diversas alterações nas plantas e a adequação na legislação brasileira para a nova linha de produção.

### **5.2.2 Processo de produção e Proposta de rotas tecnológicas**

De forma geral, a planta de produção do xarope de glicose apresenta as seguintes etapas principais:

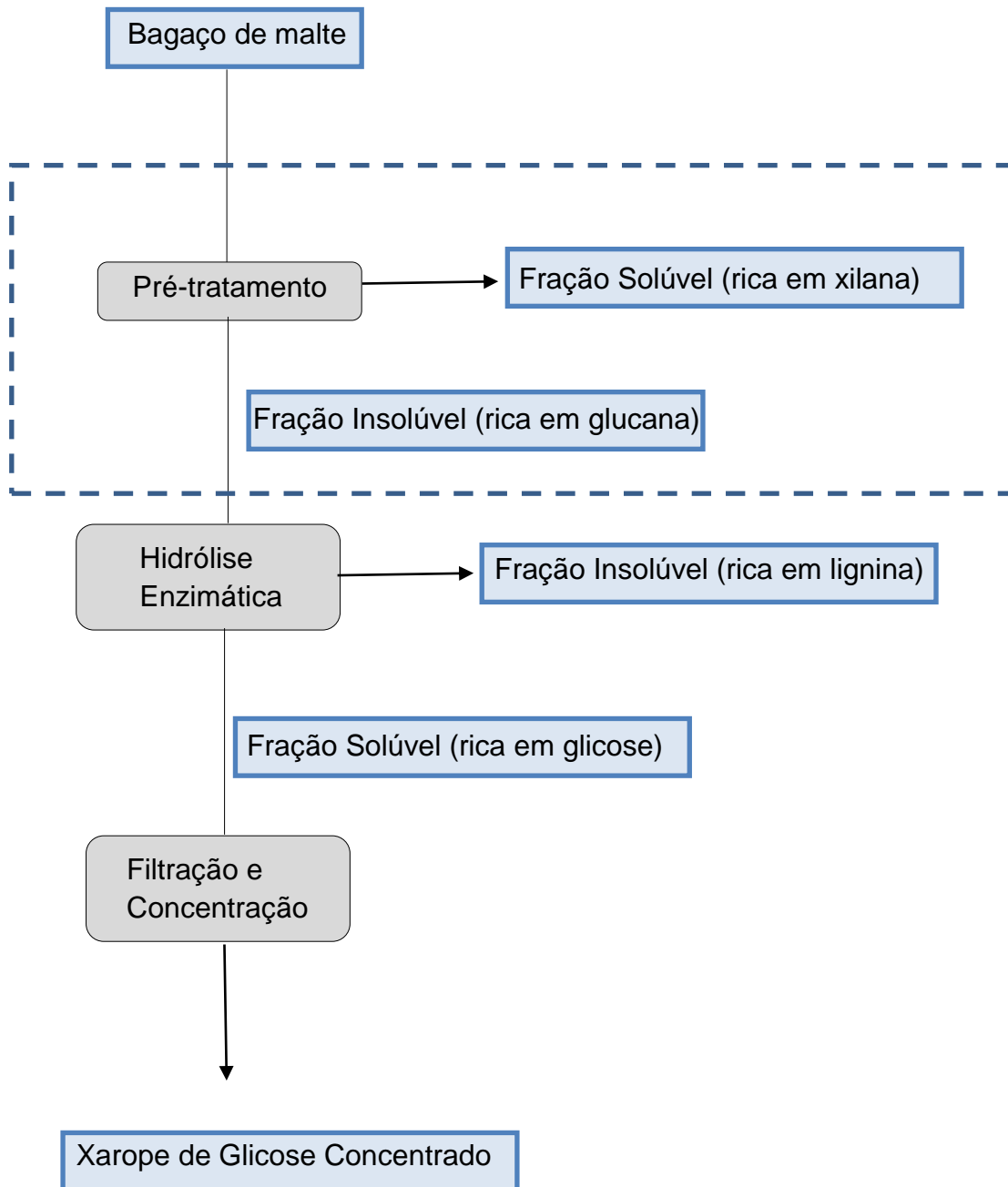
- a) Armazenamento da matéria-prima;
- b) Pré-tratamento hidrotérmico com remoção da fração líquida e seu armazenamento;
- c) Hidrólise enzimática com remoção da fração sólida e seu armazenamento;
- d) Evaporação e clarificação do concentrado de glicose;
- e) Filtração e clarificação do xarope de glicose;
- f) Estocagem do xarope de glicose.

Das etapas apresentadas, as etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática apresentam maior complexidade e custo de processo. Como as indústrias buscam processos de baixa complexidade e com custos capitais e operacionais reduzidos. Inicialmente, duas rotas foram propostas de forma a atender a esses dois fatores, mas mantendo o grau alimentício do produto final.

- **Rota A**

Produção de Xarope de Glicose a partir da celulose com a etapa de pré-tratamento hidrotérmico do material lignocelulósico antes da hidrólise enzimática. Nessa rota, o bagaço é enviado do silo de armazenamento para o reator do pré-tratamento

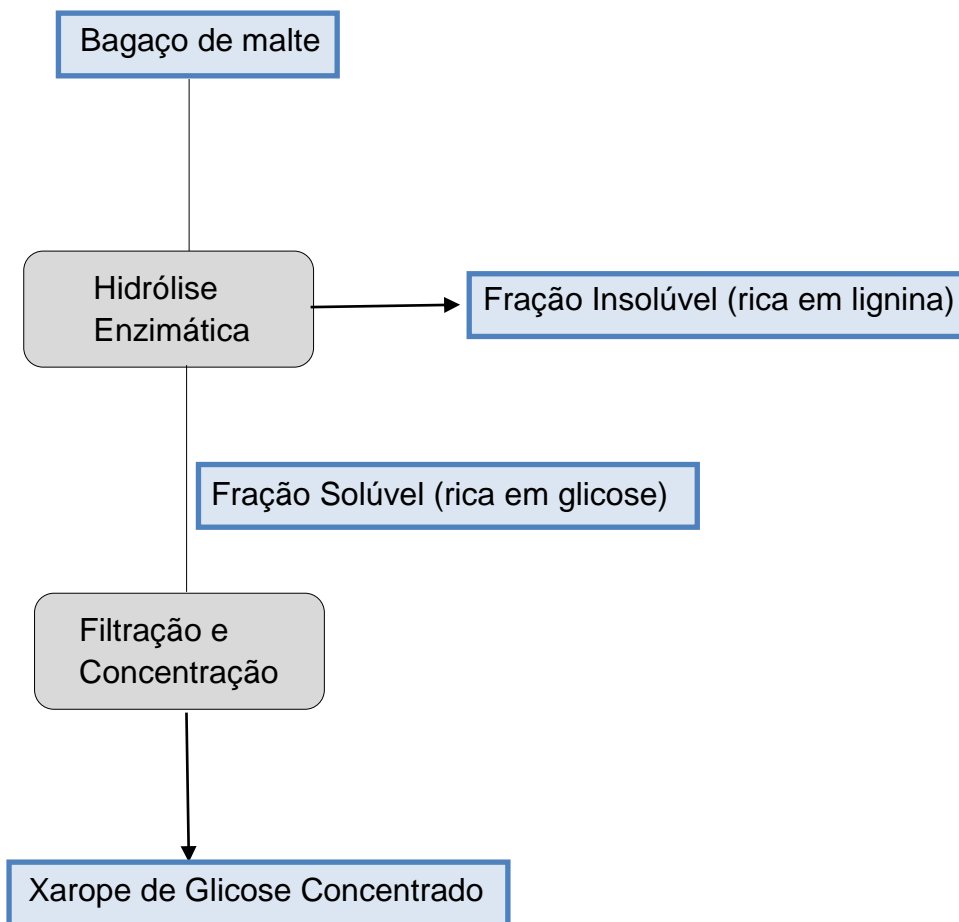
hidrotérmico e, posteriormente, a fração sólida é enviada para o reator de hidrólise. As operações são apresentadas na **Figura 20**.



**Figura 20 •** Diagrama de blocos simplificado da Rota A de produção do bagaço de malte

- **Rota B**

Produção de Xarope de Glicose a partir da celulose utilizando o bagaço como obtido (*in natura*) para a hidrólise enzimática. O bagaço de malte é enviado do silo de armazenamento diretamente para o reator da hidrólise, para a obtenção do xarope de glicose. As operações são apresentadas na **Figura 21**.



**Figura 21** • Diagrama simplificado da Rota B de produção do bagaço de malte

### 5.2.3 Cálculos teóricos de processo

Os cálculos teóricos de processo foram determinados com base na literatura.

- Quantidade de celulose, hemicelulose e lignina

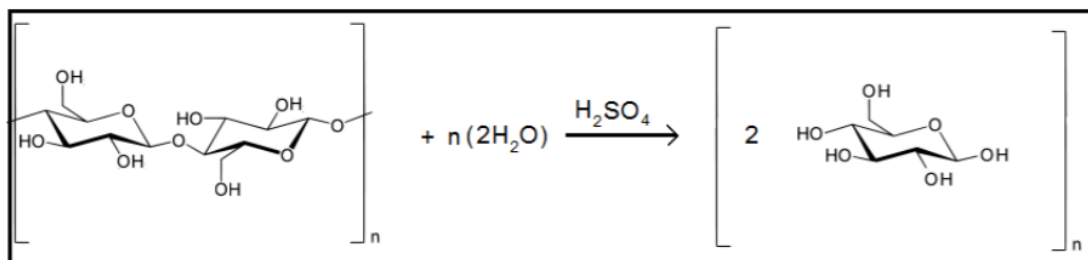
As quantidades de celulose, hemicelulose e lignina teóricas no material lignocelulósico foram estimadas com base na composição mostrada no Quadro 5. Segundo o Quadro referido, o bagaço de malte possui, em base seca, 16,78%, 28,42% e 27,78%(p/p) de celulose, hemicelulose e lignina, respectivamente. Considerando a geração da cervejaria Nova Rio, o estudo baseia-se nas quantidades teóricas mostradas na **Tabela 2**.

Componente	Volume teórico de uma cervejaria (tonelada em base seca por ano)
Bagaço de malte	17.972,33
Celulose (glucana)	3.015,76
Hemicelulose (xilana e arabinana)	5.107,74
Lignina	4.992,71

**Tabela 2** Quantidade teórica de celulose, hemicelulose e lignina produzida na Nova Rio

- Estequiometria de hidrólise enzimática da celulose em glicose

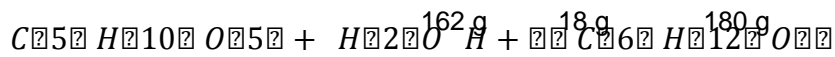
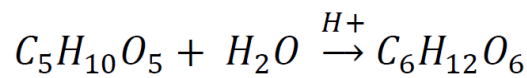
A estequiometria de hidrólise enzimática da celulose é dada por uma molécula de água (18 g/mol) é adicionada para liberação de uma molécula de glicose (180 g/mol), após rompimento de cada ligação covalente durante a hidrólise da glicose, como apresentado na .



**Figura 22** Equação química da reação de hidrólise da celulose

Fonte: GROSSI, 2015

Com  $n=1$ , tem-se que:



Dessa forma, o rendimento teórico é 180 g. de glicose/ 162 g. de celulose, resultando em 3.350,8 toneladas anuais esperadas de glicose (com base na celulose teórica apresentada na Tabela 2 - 3.015,76 toneladas por ano).

- Quantidade teórica de glicose pela Rota A e Rota B

O cálculo da quantidade de glicose produzido, tanto para Rota A quanto para Rota B, foi baseado em dados da literatura de hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos.

Para o cálculo da quantidade teórica de glicose após hidrólise enzimática da Rota A, na qual o bagaço passa pelo pré-tratamento hidrotérmico antes da conversão da celulose, o bagaço de cana foi utilizado como base por ter composição similar ao bagaço de malte.

Foi utilizada a conversão de celulose do bagaço de cana, adaptado de Silva *et al* (2010). e a quantidade de glicose foi calculado com os dados teóricos do presente trabalho, calculada pela **Equação 3**.

$$m_{glicose} = CC * m_{inicial} * y_i$$

$$y_i = \frac{m_{glicose}}{f_h * m_{inicial} * CC}$$

**Equação 3**

Onde,

Cc: Conversão de celulose (g de glicose / g de celulose);

$m_{\text{glicose}}$ : massa de glicose no hidrolisado (g de glicose);

$f_h$ : Fator de hidrólise da celulose (0,9);

$m_{\text{inicial}}$ : massa seca do bagaço (g de bagaço);

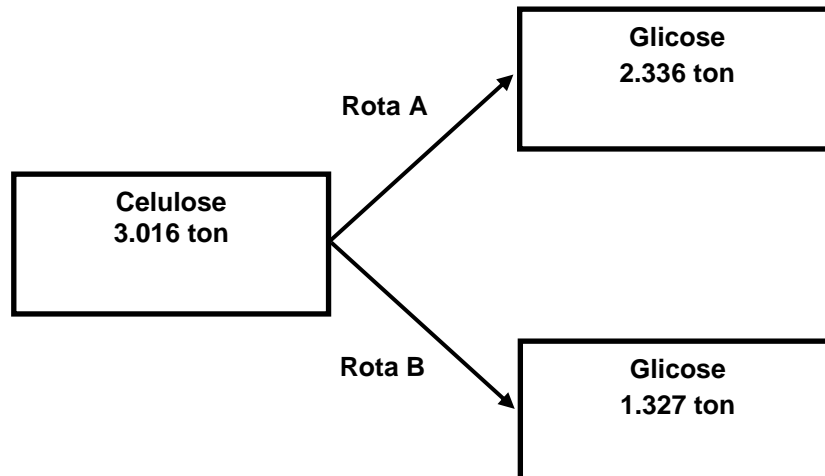
$y_i$ : conteúdo de celulose presente no bagaço.

A conversão de celulose do bagaço de cana pré-tratada a 195°C e 10 minutos, é de 0,69 g de glicose/ g de celulose (utilizando um concentrado de enzima, Celluclast 1,5L), resultando em 2.336 toneladas de glicose por ano.

A hidrólise dos polissacarídeos pela Rota B foram baseados nos dados obtidos de hidrólise enzimática do bagaço de malte por Beldman, Hennekam e Voragen (1986) utilizando celulase (2% *Röhm celulase* - 70 horas, 40°C, pH 4,85). Os autores obtiveram conversão de 44% (total de açúcar liberado/ polissacarídeo presente no bagaço). Assim, a Rota B gerou 1.327 toneladas de glicose.

Assim, os dados resumidos de quantidade teórica de glicose produzida pela Rota A e Rota B estão na **Figura 23**.





**Figura 23** Obtenção anual de glicose pela Rota A e Rota B.

#### 5.2.4 Custos de implantação

- Especificação e Custo dos equipamentos

Os equipamentos utilizados na produção do xarope de glicose seguiram o regulamento *Lista Positiva de matérias-primas para embalagens e equipamentos metálicos* da RDC 20/2007, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Os custos dos equipamentos foram considerados com base nas informações da equipe de projetos da Ambev.

O bagaço de malte deve ser transportado e armazenado de forma adequada em grau alimentício. A principal adequação na planta atual para garantir o enquadramento na legislação brasileira é em relação ao silo de bagaço de malte. Em 2015, a Anvisa proibiu o uso de aço carbono para equipamento em contato com alimentos. Com base na *Lista Positiva de matérias-primas para embalagens e equipamentos metálicos* da RDC 20/2007 (ANVISA), todos os materiais considerados nos estudos foram feitos em aço inoxidável 316.

A especificação dos principais equipamentos considerados no estudo são mostrados na **Tabela 3**.

<b>Etapa</b>	<b>Equipamento</b>	<b>Especificação</b>
<b>Armazenamento Matéria-Prima</b>	Silo de armazenamento	Aço Inoxidável, 316 Capacidade de 60 m <sup>3</sup>
<b>Pré-tratamento</b>	Reator	Aço Inoxidável, 316 Capacidade 60 m <sup>3</sup> Com jaqueta e agitador Pressão Interna: até 10 atm
<b>Hidrólise Enzimática</b>	Reator para hidrólise	Aço Inoxidável, 316 Capacidade 60 m <sup>3</sup> Com jaqueta e agitador
<b>Filtração e Concentração</b>	Tanque evaporador	Aço Inoxidável, 316 Capacidade 20 m <sup>3</sup> Com aquecimento
	Tanque de armazenamento com resfriamento	Aço Inoxidável, 316 Capacidade 20 m <sup>3</sup> Com jaqueta para resfriamento

**Tabela 3** Especificação dos principais equipamentos

Além da necessidade de adequação do material, o tanque de armazenamento deve possuir dispositivos para higienização do equipamento. Geralmente, é utilizado o *Spray Ball* acoplado ao silo.

O bagaço de malte é facilmente deteriorado, sendo a sua validade máxima de quatro horas. Cada fabrico (batelada de cerveja produzida) dura cerca de duas horas para finalizar, gerando 13,2 toneladas do resíduo. Dessa forma, o silo de armazenamento deve ser corretamente dimensionado para que o bagaço não fique acumulado causando deterioração do material no local e que a tubulação tenha mobilidade para desviar o material para o silo existente, em caso de volume máximo atingido. Nos próximos itens serão abordados os principais equipamentos necessários para as etapas mais importantes de produção do xarope de glicose.

#### a) Pré-tratamento hidrotérmico

O principal equipamento dessa etapa é o reator que deve atender às condições internas de alta temperatura e pressão. Considerou-se um reator com capacidade de 60 m<sup>3</sup>, pressão interna máxima de 10 atm, construído de aço inoxidável com composição permitida pela legislação e com sistema de higienização do tipo *spray ball*. Na alimentação do reator, é necessário um sistema de adição de água de processo em alta temperatura para reduzir o consumo de energia no aquecimento do substrato.

Após o tempo determinado de pré-tratamento, a pressão do reator deve ser aliviada até à pressão ambiente. A fração sólida, composta basicamente por celulose e lignina, forma uma camada filtrante para a passagem da fração líquida, composta por hemicelulose degradada. A remoção da hemicelulose aumenta o rendimento da hidrólise enzimática (GROHMANN, 1985). Essa fração é enviada para um tanque pulmão para posterior venda como alimentação animal. A fração rica em celulose e lignina é enviada para um tanque pulmão e, posteriormente, enviada para outro reator, onde ocorre a hidrólise enzimática para conversão em glicose.

#### b) Hidrólise enzimática

O reator para hidrólise enzimática é um reator fechado de aço inoxidável com capacidade de 60 m<sup>3</sup>, agitado e em temperaturas amenas (cerca de 50°C). Como todos os equipamentos, deve ter dispositivos para higienização (CIP).

#### c) Filtração e Concentração do Xarope de Glicose

Após a hidrólise enzimática, o xarope de glicose deve passar por uma etapa de filtração para remoção de partículas sólidas e concentração, através de um evaporador, para melhor qualidade do produto.

No tanque evaporador, é adicionado carvão ativado para clarificação do xarope e eliminação de sabores indesejados, e juntamente é colocado um coadjuvante de filtração. Posteriormente, o xarope é filtrado em placas, utilizando pré-capas, formadas por uma fina camada de terra diatomácea sobre placas filtrantes. São utilizados tocadores de calor durante a filtração enquanto o xarope circula entre o

tanque ferveador e o filtro até atingir coloração límpida. O xarope, então, é estocado em tanque de aço inoxidável em baixa temperatura.

Os equipamentos considerados para cada rota estão descritos na **Tabela 4**.

Etapa	Equipamento	Preço (Mio USD)	Rota A	Rota B
Armazenamento Matéria-Prima	Silo Aço Inoxidável 60 m <sup>3</sup>	0,5	X	X
	Reator 60 m <sup>3</sup>	4,5	X	-
Pré-tratamento	Trocador de calor	0,4	X	-
	Tanque para solúveis	0,3	X	-
	Bombas	0,1	X	-
	<i>Total Pré-tratamento: USD 5,3 MiO</i>			
Hidrólise enzimática	Reator para hidrólise	5,0	X	X
	Bombas	0,1	X	X
	Trocador de calor	0,8	X	X
	Tanque para solúveis	0,3	X	X
<i>Total Hidrólise: USD 6,2 MiO</i>				
Filtração e Concentração	Tanque evaporador / Filtro	0,5	X	X
	Filtro de placas	0,5	X	X
	Tanque de armazenamento com resfriamento	0,5	X	X
	Trocador de calor	0,4	X	X
<i>Total Filtração e Concentração: USD 1,9 MiO</i>				
Civil		5,22	X	X
Conexões		2,61	X	X
<i>Capital Total (Mio USD)</i>			<b>25,23</b>	<b>17,43</b>
<i>Capital Total (Mio R\$)</i>			<b>93,35</b>	<b>64,49</b>

\*1 USD = R\$ 3,7

**Tabela 4** Lista de equipamentos do projeto para Rota A e Rota B

Dessa forma, foi observado que o investimento em capital da Rota B, utilizando o bagaço de malte *in natura*, é 31% menor do que da Rota A, com etapa de pré-tratamento hidrotérmico.

- Custo operacional

Os custos operacionais considerados no estudo são mão de obra, custo de energia e custo das enzimas. Outros custos adicionados ao projeto foram instalação civil, interconexões, licenciamento, equipamentos de obra, sistema de automação e sistemas de segurança. O custo do consumo de água foi desconsiderado, pois a cervejaria tem grande disponibilidade do insumo e os custos são desprezíveis se comparado aos demais custos.

a) Mão de obra

Para o custo da mão de obra, considerou-se operação em três turnos, com um supervisor e três operadores por turno, com os salários baseados no Instituto de Pesquisa Data Folha (2018). Os encargos e insumos necessários para cada pessoa foi calculado pela planilha disponibilizada pelo Tribunal de Contas da União (TCU) (<http://portal.tcu.gov.br/lumis/portal/file>), apresentado no Apêndice I.

Segundo o Instituto de Pesquisa Data Folha (2018), o supervisor recebe salário médio de R\$3.464,00 e o operador de planta R\$ 1.696,40 por mês, fora os encargos trabalhistas.

De acordo com os cálculos feitos utilizando a planilha do TCU (apêndice I), o custo mensal de cada supervisor é de R\$ 6.545,05 e operador R\$ 3.298,09. O custo da mão de obra por tonelada de glicose produzida para Rota A e Rota B resulta em R\$ 265,7 e 460,5, respectivamente.

b) Energia

O consumo de energia da planta foi calculado com base no reporte da *National Renewable Energy Laboratory* – NREL - (TAO *et al.*, 2012) para os equipamentos envolvidos. O custo do kWh foi baseado no preço industrial atual do Rio de Janeiro, R\$0,37 kWh. Por falta de dados para o cálculo do consumo de energia do pré-

tratamento hidrotérmico isolado, estimou-se que 30% da energia total é utilizada apenas nessa etapa.

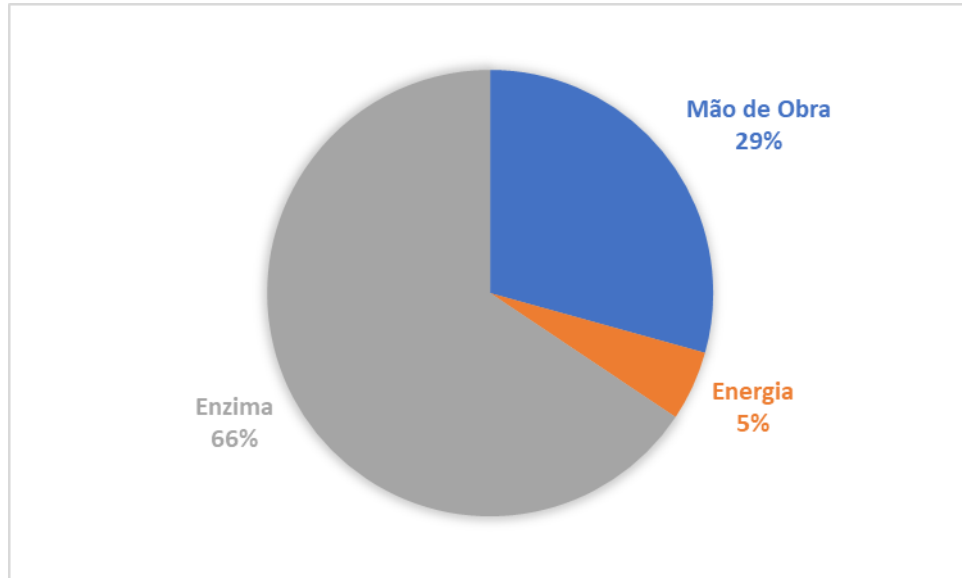
Tao *et al.*, (2012) estimaram o consumo de 132,7 kWh por tonelada de glicose produzida. Atualmente, a cervejaria Nova Rio paga R\$ 0,37 por kWh consumido. Na Rota A, o consumo de energia foi de 378.935 kWh por ano com o custo anual de R\$ 102.312,6. Na Rota B, considerou-se 70% do consumo total para o cálculo da energia consumida pela hidrólise enzimática, resultando em um consumo de 265.254,8 kWh e custo de R\$ 71.618,8 por ano.

### c) Enzimas

O complexo de celulase, Cellic CTEC 2, foi definido como base para a análise de custos da enzima. O preço da enzima utilizada foi obtida pelo site da Sigma-Aldrich (<https://www.sigmaaldrich.com/life-science/biochemicals/biochemical-products>).

A carga de sólidos aplicada foi de 100 g/L com o uso de enzimas comerciais de carga proteica de 20 mg de proteína por g de celulose. O preço da enzima da Novozyme é R\$23,2 por kg de proteína. Como o cálculo foi baseado na massa de celulose, ambas as rotas têm o mesmo custo anual de enzima, R\$1.324.932. Porém, o custo de enzima pelo produto final, favorece a Rota A, com custo de R\$ 567,3/ tonelada de glicose, enquanto a Rota B tem o custo de R\$ 998,5 / tonelada de glicose.

O custo da enzima representa a maior parcela dos custos de produção do xarope de glicose, como mostrado na **Figura 24**.



**Figura 24** Impacto dos custos de produção operacional do xarope de glicose.

### 5.2.5 Retorno do investimento

- Valor de venda do xarope

Foram considerados dois valores do xarope de glicose

Cenário 1) Preço de mercado atual: R\$ 10,60 por kg (NOVA SAFRA,2018).

Cenário 2) Preço competitivo: 70% do preço de mercado atual.

Essa separação foi feita por possível redução de preço dos principais competidores para manter-se no mercado.

- Valor de venda dos subprodutos do processo de hidrólise

O bagaço de malte é vendido para formulação/suplementação de ração animal, e tem seu preço estabelecido com base nos teores de umidade e proteína. Sabe-se que, após o tratamento e hidrólise desse material, a quantidade de proteína não passará por grande interferência, embora possa se perder um pouco de seu conteúdo por hidrólise térmica. Considerando que a perda significativa será no teor de fibras, que não é determinante para venda do bagaço como suplemento para ração animal, considera-se vender o resíduo do material hidrolisado pelo mesmo valor de venda do bagaço *in natura* (R\$75,00 por tonelada).



- Receita total esperada e *payback*

A receita esperada da produção de xarope de glicose é calculada pela **Equação 4**.

$$R_{XG} = V_{XG} \times (P_{XG} - (C_{MO} + C_E + C_Z))$$

**Equação 4**

Onde,

$R_{XG}$  – Receita esperada do xarope de glicose, R\$/ano;

$V_{XG}$  – Quantidade produzida de xarope de glicose, ton/ano;

$P_{XG}$  – Preço do xarope de glicose, R\$/ton;

$C_{MO}$  – Custo de mão de obra, R\$/ton de xarope de glicose;

$C_E$  – Custo de energia, R\$/ton de xarope de glicose;

$C_Z$  – Custo da enzima, R\$/ton de xarope de glicose.

O cálculo da receita dos co-produtos é a quantidade de biomassa sem celulose multiplicado pelo o valor de venda do bagaço de malte.

O *payback* foi calculado de forma simples pela **Equação 5**.

$$\text{Payback} = \text{Valor de Capital} /$$

$$\text{Payback} = \text{Valor de Capital} / \text{Aumento Anual da Receita}$$

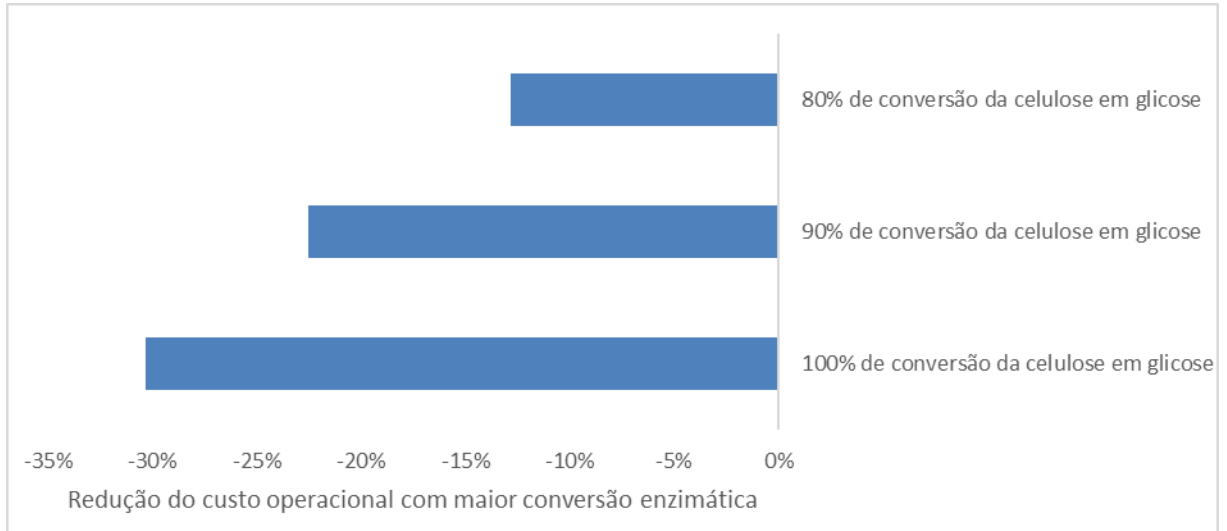
**Equação 5**

A **Tabela 5** consolida os resultados obtidos nos itens anteriores para o cálculo da receita total gerada e *payback* do projeto.

	Rota A		Rota B	
Produção Anual de biomassa (tonelada)	89.861,63		89.861,63	
Produção Anual de biomassa (massa seca - tonelada)	17.972,33		17.972,33	
Receita Atual da venda do bagaço de malte	6.739.622,40		6.739.622,40	
Taxa de conversão celulose – glicose	70%		44%	
Produção Anual de Glicose (tonelada)	2.336		1.327	
<b>Custos Operacionais (R\$ por tonelada de glicose produzido)</b>				
Mão de Obra	253,4		446,0	
Energia	49,1		25,1	
Enzimas	567,3		998,5	
<b>Total</b>	<b>869,8</b>		<b>1.469,6</b>	
<b>Retorno Esperado</b>				
	Preço de Mercado Atual	Preço Competitivo	Preço de Mercado Atual	Preço Competitivo
Receita Esperada do Xarope de Glicose (mil R\$/ano)	22.725.259	15.298.255	12.115.460	7.895.814
Receita da Venda dos Co-produtos (mil R\$/ano)	5.863.796,5	5.863.796,5	6.242.022,6	6.242.022,6
Receita Total Esperada (mil R\$/ano)	28.589.055,6	21.162.051,9	18.357.482,9	14.137.836,6
Aumento na Receita Anual (mil R\$/ano)	21.849.433,2	14.422.429,5	11.617.860,5	7.398.214,2
<b>Pay-back Simples (anos)</b>	<b>4,3</b>	<b>6,5</b>	<b>5,6</b>	<b>8,7</b>

Tabela 5 Cálculos de Receita e Payback da produção de Xarope de Glicose.

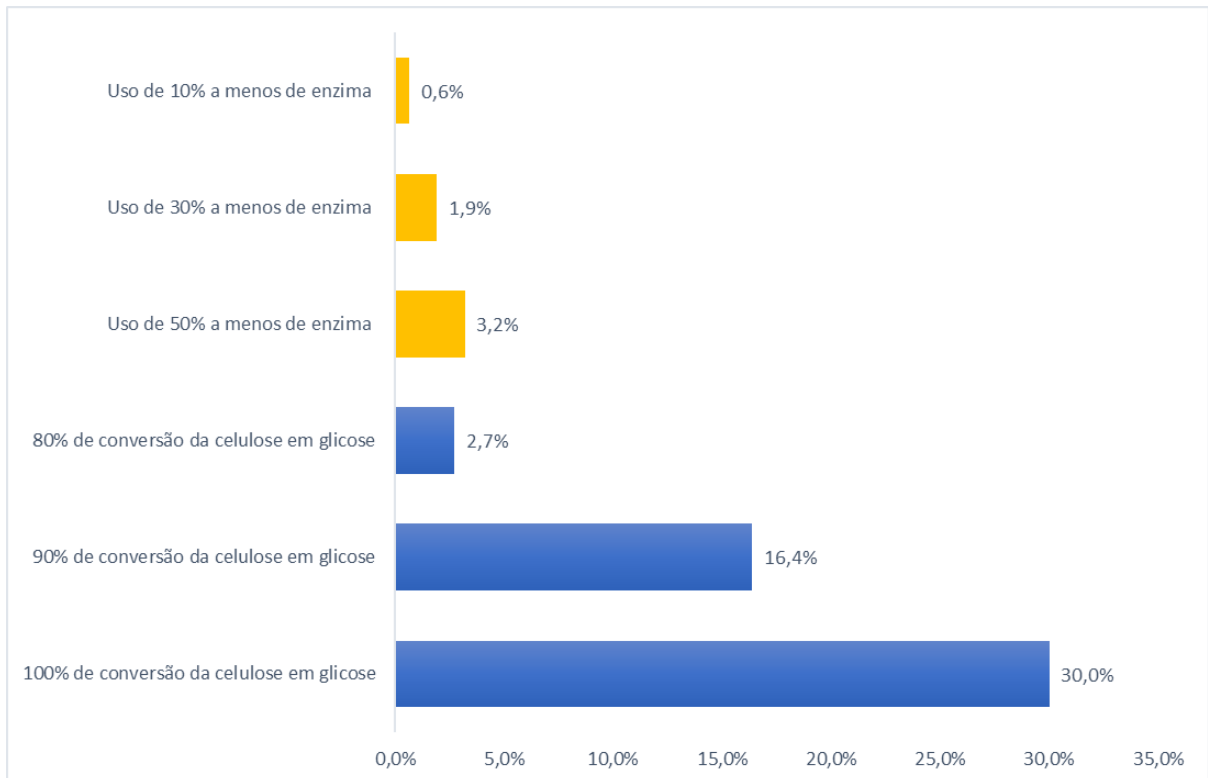
Os custos de mão de obra e enzima são os mesmos tanto para a Rota A quanto para a Rota B, já o custo de energia da Rota A é maior devido à necessidade de aquecimento do reator para o pré-tratamento hidrotérmico. Como a Rota A tem maior conversão de celulose em glicose, produzindo 1.009 toneladas (em matéria seca) de glicose por ano a mais que a Rota B, os custos operacionais utilizando o bagaço *in natura* será mais elevado, pois os valores não são diluídos pela quantidade de glicose produzida. A Figura 25 representa o impacto que o aumento da conversão da celulose em glicose pode causar no custo operacional total.



**Figura 25** Impacto da conversão enzimática em relação ao custo operacional

A Figura 25 mostra que a oportunidade de redução de custo operacional é proporcional ao volume de glicose produzido. Assim, os esforços devem ser concentrados na escolha do pré-tratamento mais eficaz e de enzimas mais eficientes.

O aumento da receita do xarope de glicose pré-tratado obteve um incremento em cerca de 88% em relação ao processo com o bagaço *in natura*; isso se deve basicamente à maior quantidade de xarope gerada. Melhores rendimentos de conversão são essenciais para uma redução de custo, de forma a diluir os investimentos, tanto em capital quanto em operação. A **Figura 26** representa o quanto a receita pode ser aumentada se melhores rendimentos forem atingidos.



**Figura 26** Impactos financeiros com melhores rendimentos de processo.

Pela Figura 26, observa-se que o maior impacto financeiro no projeto é causado pela conversão da celulose em glicose mais eficiente. Considerando a conversão enzimática ideal, o projeto reduziria o tempo de retorno em 1 ano, no caso da comercialização com valor do mercado atual, e em 1,6 anos, aplicando o preço competitivo. Para fins de projeto, a meta de 90% de conversão à glicose foi determinada, o que resultou na redução de 6 meses de retorno, mercado atual, e 1 ano, preço competitivo.

Também, foi avaliado o efeito da redução do custo da enzima, tanto em dosagem aplicada, quanto em preço de compra. Apesar desse custo ser responsável por 66% dos custos operacionais apresenta pouco impacto na receita gerada pelo projeto.

A Rota A aplicada para o aproveitamento do bagaço de malte visando à produção de xarope de glicose apresenta menor tempo de retorno (4,3 anos) e maior receita anualizada (R\$21,8 Milhões). O cenário de 95% de conversão apresenta um *payback* de 3,4 anos, tornando o projeto mais atrativo do ponto de vista dos investidores.

### 5.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS DO ESTUDO DE CASO

Com o objetivo de aumentar a receita da empresa Ambev, o aproveitamento do bagaço de malte cervejeiro para produção de xarope de glicose, perante as pesquisas realizadas, apresenta grande potencial de implantação. O cenário da Rota A considerando o valor de mercado atual é o mais promissor e no próximo capítulo foram realizados experimentos para a prova de conceito do projeto. Com base no estudo de caso realizado, pode-se concluir que:

- ✓ A metodologia desenvolvida para a construção do plano de negócio permitiu visualizar, no contexto industrial, o aumento na receita da cervejaria e os principais fatores que podem impactar no negócio, e dessa forma, auxiliar na tomada de decisão.
- ✓ A partir de 89.861 toneladas de bagaço de malte gerado por ano na cervejaria Nova Rio, as Rotas A e B podem levar à produção de 2.336 e 1.327 toneladas de xarope de glicose, respectivamente.
- ✓ A Rota A resultou em um incremento na receita atual de 324%, preço de mercado atual, e 214%, mercado competitivo. Apesar da maior complexidade no processo, causado pela adição de mais uma etapa ao processo, esta rota apresentou maior receita e menor tempo de retorno de investimento.
- ✓ A Rota B apresentou aumento de 172%, mercado atual, e 110%, mercado competitivo, com menor complexidade.
- ✓ A Rota A apresentou maior custo operacional, R\$2.031.443 por ano, quando comparado com a Rota B, R\$1.950.027 por ano. No entanto, por produzir maior quantidade de xarope de glicose, a Rota A apresenta menor custo operacional por tonelada de produto gerado.
- ✓ De acordo com as análises econômicas preliminares, a Rota A com aplicação de preço de mercado é o mais viável.
- ✓ No mercado cervejeiro, os resíduos industriais não são bem explorados e sua grande aplicação é na alimentação animal, sem nenhum processamento anterior. O presente trabalho propõe uma alteração inovadora na cadeia dos sub-produtos cervejeiros.
- ✓ Atualmente, o xarope de glicose encontrado no mercado é produzido a partir do amido de milho. Esse cenário pode ser promissor, já que o presente trabalho propõe uma inovação no mercado de xaropes.

- ✓ O *payback* máximo varia para cada segmento e empresa. No caso da Ambev, o tempo de retorno de investimento máximo é de 2 anos. Apesar de nenhum dos cenários apresentar *payback* inferior a 2 anos, a visão estratégica de implantação do projeto pode ser levada em consideração na tomada de decisão do investimento.
- ✓ A quantidade de equipamento necessária para construção da planta de produção do xarope de glicose influencia diretamente no custo de produção e no investimento do projeto. A redução no custo desses fatores tornaria o projeto mais atrativo.
- ✓ A otimização das eficiências da hidrólise, bem como, a redução no custo das enzimas, pode ser um fator que contribua para economicidade do processo.

## 6 AVALIAÇÃO DE PRÉ-TRATAMENTO E HIDRÓLISE DO BAGAÇO DE MALTE

### 6.1 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 6.1.1 Preparo e acondicionamento da matéria-prima

O bagaço de malte utilizado foi oriundo da cervejaria piloto do Centro de Desenvolvimento de Tecnologia da Ambev (Parque Tecnológico/UFRJ), a partir de uma produção com base na receita da cerveja Skol (tipo Pilsen). O material não foi lavado com água, para reproduzir as condições similares às da cervejaria, em que o bagaço é lavado durante o processo, mas depois de expulso para o silo, não passa por nenhum tipo de tratamento.

O material foi submetido a processo de secagem para eliminar a água livre e diminuir o risco de contaminação durante o armazenamento e execução do trabalho experimental. Para tanto, o material foi disposto em bandejas de alumínio e seco em estufa de circulação de ar a 65°C por aproximadamente 24 horas. Posteriormente, o material foi inserido em sacolas de papel e mantido à mesma temperatura até que apresentasse massa constante. A **Figura 27** apresenta as etapas da secagem do bagaço. Depois de seco, o bagaço de malte foi armazenado em vasilhames de propileno e mantido à temperatura ambiente.



**Figura 27** Fotos da etapa de secagem do bagaço de malte

## 6.1.2 Desenvolvimento experimental do pré-tratamento e hidrólise do bagaço de malte

### 6.1.2.1 Caracterização do bagaço de malte

- Teor de umidade

O teor de umidade do material seco foi determinado em analisador de umidade do modelo HE53 da marca Mettler Toledo. O equipamento foi programado para temperatura de análise em 105°C. O teor de umidade da amostra é dado em porcentagem do peso molhado (PM = peso inicial = 100%). A **Equação 6** é utilizada para determinar o teor de umidade na amostra (METTLER TOLEDO, 2014).

### Equação 6

$$TU = PM - PS$$

$$TU = \frac{PM - PS}{PM} \cdot 100\%$$



Sendo,

TU = Teor de umidade (0 a 100%)

PM = Peso úmido (g)

PS = Peso seco (g)

- Teor de extrativos

A determinação de extrativos na biomassa deve ser realizada antes das etapas analíticas de caracterização para evitar interferência nos resultados. Esta determinação foi feita em Soxhlet conforme metodologia reportada por Sluiter *et al.* (2008) e é descrita a seguir.

Foi colocada na aparelhagem limpa de extração por Soxhlet, cartucho com 4 g. de biomassa. Ao balão de vidro foi adicionado 150 mL de acetona, e conectada ao extrator. O conjunto balão-extrator foi colocado em uma manta aquecedora e conectada ao extrator **Figura 28**.



**Figura 28** Análise de teor de extrativo por método Soxhlet

O sistema aquecido, foi ajustado para ocorrer, no mínimo 24 refluxos no período de 4 a 5 horas de extração. Após esse tempo, o balão com solvente e extrativo foi removido, e o extrato foi transferido para um recipiente de pesagem, previamente limpo, seco e com massa determinada. O recipiente foi deixado em estufa 105°C por uma hora, exatamente, pois não é possível que o material atinja um peso constante, por causa da volatilidade do extrato. Após esse tempo, o material foi removido da estufa e colocado em dessecador por 30 minutos, até temperatura ambiente, e mediu-se o peso final. O teor de extrativo foi obtido pela **Equação 7**.

### Equação 7

$$T_E = \frac{M_{BC} - M_{BCE}}{M_B} * 100$$

Onde,

$T_E$ : Teor de extrativo;

$M_{BC}$ : Massa da biomassa seca+cartucho antes da extração;

$M_{BCE}$ : Massa da biomassa seca+cartucho após extração;

$M_B$ : Massa da biomassa seca.

- Teor de lignina, carboidratos estruturais e cinzas

Após a cominuição, uma massa de 300 mg do bagaço foi pré-tratada com 3 mL de ácido sulfúrico 72% (m/m), em frascos cônicos a 30°C por 1 hora. Posteriormente, a concentração do ácido foi ajustada para 4% e a amostra com a solução ácida foi colocada na autoclave a 121°C por 1 hora, de forma a monomerizar os açúcares provenientes dos polissacarídes quantificados na fração líquida pós-neutralização. O hidrolisado foi filtrado em cadinho tipo Gooch nº3 (previamente calcinado a 550°C

por 5 horas e pesado), enquanto a fração sólida foi lavada com água destilada para remover todo o hidrolisado. Os cadinhos juntos com a fração sólida foram secos na estufa Nova Ética a 100°C por 24 horas e pesados. Depois, os cadinhos foram novamente calcinados na mufla Jung a 550°C, durante 5 horas, resfriados e pesados para quantificação de cinzas e lignina. Quanto a fração líquida, o pH foi ajustado a 5,5 com hidróxido de sódio e depois, filtrado. Por essa fração foram determinadas as concentrações de açúcares redutores totais pelo método DNS (ácido dinitrosalicílico) (MILLER, 1959) e glicose pelo método de GOD (glicose oxidase) (FOSTER e HIRATA, 1988). Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Os teores de celulose, hemicelulose, lignina e cinza foram determinados utilizando as **Equações 8, 9, 10 e 11**.

$$Celulose \left( \% \frac{m}{m} \right) = \left( \frac{0,9}{0,96} \right) * c_1 * \left( \frac{v}{m} \right) * \alpha * 100 \quad \text{Equação 8}$$

$$Hemicelulose \left( \% \frac{m}{m} \right) = \left( \frac{0,88}{0,93} \right) * (C_2 - C_1) * \left( \frac{v}{m} \right) * \alpha * 100 \quad \text{Equação 9}$$

$$Lignina \left( \% \frac{m}{m} \right) = \left( \frac{W_1 - W_2}{m} \right) * 100 \quad \text{Equação 10}$$

$$Cinza \left( \% \frac{m}{m} \right) = \left( \frac{W_2}{m} \right) * 100 \quad \text{Equação 11}$$

Onde,

0,90 é o coeficiente que resulta da relação entre massa molecular da celulose e do monômero de glicose;

0,96 é o rendimento de sacarificação da celulose a glicose;

0,88 é o coeficiente que resulta da relação entre massa molecular do polímero, hemicelulose, a monômeros de xilose;

0,93 é o rendimento de sacarificação da xilana a xilose;

C1 é a concentração de glicose (g/L)

C2 é a concentração de açúcares redutores (g/L)

W1 é o resíduo seco da filtragem (g);

W2 é o peso do resíduo após calcinação (g);

V é o volume total da solução de açúcar;

m é a massa da amostra seca; e

$\alpha$  é a diluição da amostra, se houver.

- Quantificação dos açúcares redutores totais (ART)

Os açúcares totais foram determinados colorimetricamente, em triplicata, pelo método DNS (Ácido 3,5 Dinitrosalicílico) (MILLER, 1959). A identificação e quantificação dos principais componentes da fração polissacarídea do bagaço de malte, xilose e glicose, foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em dois cromatógrafos: Shimatzu e Waters, acoplado a uma coluna PL Hi-Plex.

- Quantificação do teor de proteína

Foi construída curva padrão a partir de solução de albumina bovina sérica (BSA) com concentração variando de 50 a 1000 mg/L. Para o protocolo de quantificação de proteína utilizou-se microtubos de 2 mL, onde 20  $\mu$ L de amostra, diluída em água destilada, foram adicionadas a 1000  $\mu$ L de reativo Bradford (BioRad) (BRADFORD, 1976). A solução foi incubada a temperatura ambiente por 5 minutos, e a absorbância dos microtubos foram lidas em 595 nm, calibrando-se a sua leitura com o branco (água) experimental. Cada análise foi realizada em triplicata.

#### 6.1.2.2 Pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de malte

##### 6.1.2.2.1 Planejamento Experimental

Para avaliação do pré-tratamento do bagaço de malte, foram definidas três variáveis de importância, a temperatura (pressão), o tempo de exposição e a razão sólido/líquido do meio. De forma a facilitar o desenvolvimento experimental, as temperaturas foram avaliadas em 2 planejamentos independentes. Desta maneira,

foram realizados dois planejamentos fatoriais de 2 níveis (mais alto /+/ e mais baixo /-/) e 2 fatores (razão sólido líquido e tempo de exposição), um para cada temperatura (pressão) estudada. Tais planejamentos fatoriais ( $2^2$ ) geram uma matriz de 4 experimentos cada, que foi adicionada de pontos centrais de cada fator em duplicata (representados por /0/).

A razão sólido/líquido variou entre 5 e 25%, com ponto central em 15%, e o tempo de exposição teve sua faixa definida entre 20 e 60 min., com tempo médio de 40 min. As duas temperaturas de análise foram 121 e 124°C. A **Tabela 6** apresenta a matriz de planejamento com as respectivas faixas adotadas para cada fator.

EXPERIMENTO	Fatores	
	$X_1 = \text{Sólido/ Líquido (\%)}$	$X_2 = \text{tempo (min)}$
<b>1</b>	5 (-)	20 (-)
<b>2</b>	5 (-)	60 (+)
<b>3</b>	25 (+)	20 (-)
<b>4</b>	25 (+)	60 (+)
<b>5 (PC<sub>1</sub>)</b>	15 (0)	40 (0)
<b>6 (PC<sub>2</sub>)</b>	15 (0)	40 (0)

**Tabela 6** Matriz de experimentos realizados para cada planejamento experimental.

As amostras do bagaço de malte seco foram pesadas e adicionadas em frascos Erlenmeyers com o volume adequado de água destilada, de acordo com relação sólido/líquido do experimento em questão. Os Erlenmeyers foram colocados na autoclave pelo tempo determinado e após o hidrotreatamento, a fração sólida foi lavada com água para retirada dos açúcares residuais e disposta em estufa a 50°C por dois dias para secagem.

O pré-tratamento foi realizado de forma extremamente branda para diminuir os custos de energia e a complexidade de operação nas cervejarias. Para analisar esse fator, o grau de severidade do tratamento foi calculado pela Equação 2, como mostrado no Capítulo 4 (OVEREND, CHORNET e GASCOIGNE, 1987).

$$\log(Ro) = \log\left(t * e^{\left(\frac{T-T_{ref}}{14,75}\right)}\right) \quad \text{Equação 2}$$

Onde,

Ro = Grau de severidade;

t = tempo de residência;

T = Temperatura;

T<sub>ref</sub> = Temperatura de referência para um caso base – geralmente, 100°C.

A resposta do planejamento experimental foi a superfície de concentração de celulose presente na fração sólida do bagaço de malte após pré-tratamento nas condições de 121°C e 124°C, na faixa de tempo de 20 – 60 minutos e concentração de sólido/ líquido de 5 – 15%. A avaliação estatística visa a maximização da quantidade de glicose na fração sólida do pré-tratado. Como a resposta do planejamento experimental está intrinsecamente ligada a solubilização de hemicelulose, também foi analisada a curva de superfície da hemicelulose ainda presente na fração sólida, os açúcares liberados na fração líquida do pré-tratado e o grau severidade do pré-tratamento hidrotérmico, nessas mesmas condições.

Foi utilizada a mesma metodologia de caracterização do bagaço *in natura* para determinação dos compostos presentes nas amostras pré-tratadas. A concentração de açúcares da fração líquida foi analisada utilizando CLAE. As amostras foram analisadas utilizando o sistema de cromatografia líquida de alta performance (CLAE) (Shimadzu-RID-10A, detector de índice de refração) nas condições apresentadas na **Tabela 7**.

<b>Coluna</b>	<b>Hi-plex H – Agilent – 60°C</b>
<i>Fase móvel</i>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 mM Fluxo 0,6 mL/min
<i>Padrão</i>	maltose, arabinose, xilose e glicose (10 g/L)

**Tabela 7** Condições de análise no HPLC.

### 6.1.2.3 Hidrólise enzimática da celulose

Para a realização da hidrólise enzimática, foi selecionada a amostra com maior concentração de celulose na fração sólida, obtida como resposta do planejamento experimental realizado, sendo o experimento 5 com 15% de celulose presente na fração sólida. Para determinar a melhor eficiência enzimática, a hidrólise foi realizada com carga sólidos de 50 g/L e 100 g/L por 18 horas. A conversão da celulose a glicose foi realizada utilizando um complexo enzimático comercial, Cellic Tec 2. A carga total de enzima (20 mg proteína/ gcelulose) foi adicionada em relação aos 50 e 100 g/L, segundo orientação do fornecedor. Os experimentos foram conduzidos em frascos Eppendorf em triplicata, com 1 mL de volume reacional. Os frascos foram incubados sob agitação vertical a 50°C, conforme indicação do fornecedor de enzimas, Novozyme. As amostras foram retiradas para análise de açúcares, sendo centrifugadas a 2500xg por 10 minutos e o sobrenadante armazenado em *freezer* a 4°C até a sua análise.

A eficiência da hidrólise enzimática da celulose em glicose foi calculada através da **Equação 12**.

$$E_H(\%) = \frac{G_H}{(G_T \times 1,11)} \times 100 \quad \text{Equação 12}$$

Onde:

$E_H$  – Eficiência da hidrólise enzimática (%);

$G_H$  – Concentração de glicose liberada após hidrólise enzimática (g/L);

$G_T$  – Concentração teórica de glicose (g/L).

O fator 1,11 tem unidade de g de glicose por g de celulose e é obtido conforme a **Equação 13**.

$$\text{Conversão celulose – glicose} = \frac{\text{mmolar da glicose}}{\text{mmolar da celulose}} \quad \text{Equação 13}$$

Sendo, mmolar da glicose igual a 180 g e mmolar da celulose 162 g.

Para uniformização e aumento da área superficial, o material foi moído em moinho de impacto (MF10 Basic, marca IKA) e as partículas padronizadas com uso de peneira de abertura 0,5 mm. Desta maneira, promove-se melhor interação das enzimas com as partículas do bagaço, além de evitar a perda de material solúvel por absorção na matriz sólida.



## 6.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.2.1 Caracterização do bagaço de malte

A caracterização do bagaço de malte *in natura* realizada pelo LADEBIO (UFRJ) é apresentada na **Tabela 8** e corrobora com a literatura, de acordo com a qual a fração lignocelulósica do bagaço de malte é composta por 16,78% (p/p) de celulose, 28,42%(p/p) de hemicelulose e 27,78% (p/p) de lignina (DRAGONE, 2007), apontando o bagaço como um material predominantemente fibroso.

Componente	% (p/p) em matéria seca
<b>Extrativo</b>	14,28
<b>Celulose</b>	16,55
<b>Hemicelulose</b>	25,7
<b>Lignina</b>	27,72
<b>Cinzas</b>	1,26
<b>Proteínas</b>	8,85
<b>ART*</b>	2,16
<b>Outros</b>	3,48

\*ART: Açúcar redutor total

**Tabela 8** Composição do Bagaço de Malte da cervejaria

A baixa concentração de proteínas, comparada com os dados da literatura (15,25% (p/p) (DRAGONE, 2007), pode ser devido à utilização de *gritz* de milho na receita da cerveja Skol. Segundo D'Avila (2012), os teores de proteína, peptídeos, aminoácidos livres e derivados de ácidos nucléicos diminuíram em proporção à medida que se acrescentou *gritz* de milho ou *gritz* de arroz na formulação do mosto. Isto se deve ao fato de os adjuntos em questão serem predominantemente ricos em carboidratos. Na determinação deste trabalho, não foram analisados os aminoácidos presentes no bagaço, mas foi relatado pela literatura os seguintes aminoácidos: lisina, histidina, asparagina, treonina, prolina, glicina, alanina, valina, metionina, isoleucina, leucina, triptofano e fenilalanina (ESSIEN e UDOTONG, 2008).

O baixo teor de açúcares redutores era esperado, já que o bagaço de malte é lavado até à exaustão para recuperação do máximo de açúcares fermentescíveis no preparo do mosto, com minimização da perda de extrato, fator importante nas cervejarias.

## 6.2.2 Pré-tratamento hidrotérmico

### 6.2.2.1 Planejamento experimental

As análises foram realizadas com o objetivo de avaliar a eficiência do pré-tratamento hidrotérmico nas condições determinadas pelo planejamento experimental. A eficiência da etapa é baseada na maior disponibilização da celulose para posterior conversão em glicose. Para esse resultado ser atingido, o comportamento esperado é o rompimento da estrutura lignocelulósica e degradação da parede celular, composta por hemicelulose.

### 6.2.2.2 Pré-tratamento hidrotérmico em temperatura 121°C (H1) e 124°C (H2)

De forma objetiva, a resposta do planejamento experimental é a quantidade de celulose presente no material pré-tratado visando maiores volumes de xarope de glicose. Para a avaliação da quantidade de celulose, é necessário também analisar o conteúdo da hemicelulose, pois essas duas frações estão intrinsecamente ligadas.

A **Tabela 9** mostra os resultados obtidos na fração sólida de bagaço de malte após o pré-tratamento à temperatura de 121°C **(a)** e 124°C **(b)**.

(a)

Exp	Sólido/ Líquido	Tempo (min)	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
1	5	20	9,4	26,2	32,1
2	5	60	10,1	25,2	32,6
3	25	20	9,8	30,9	32,2
4	25	60	11,2	29,0	31,4
5*	15	40	15,0	31,4	29,1

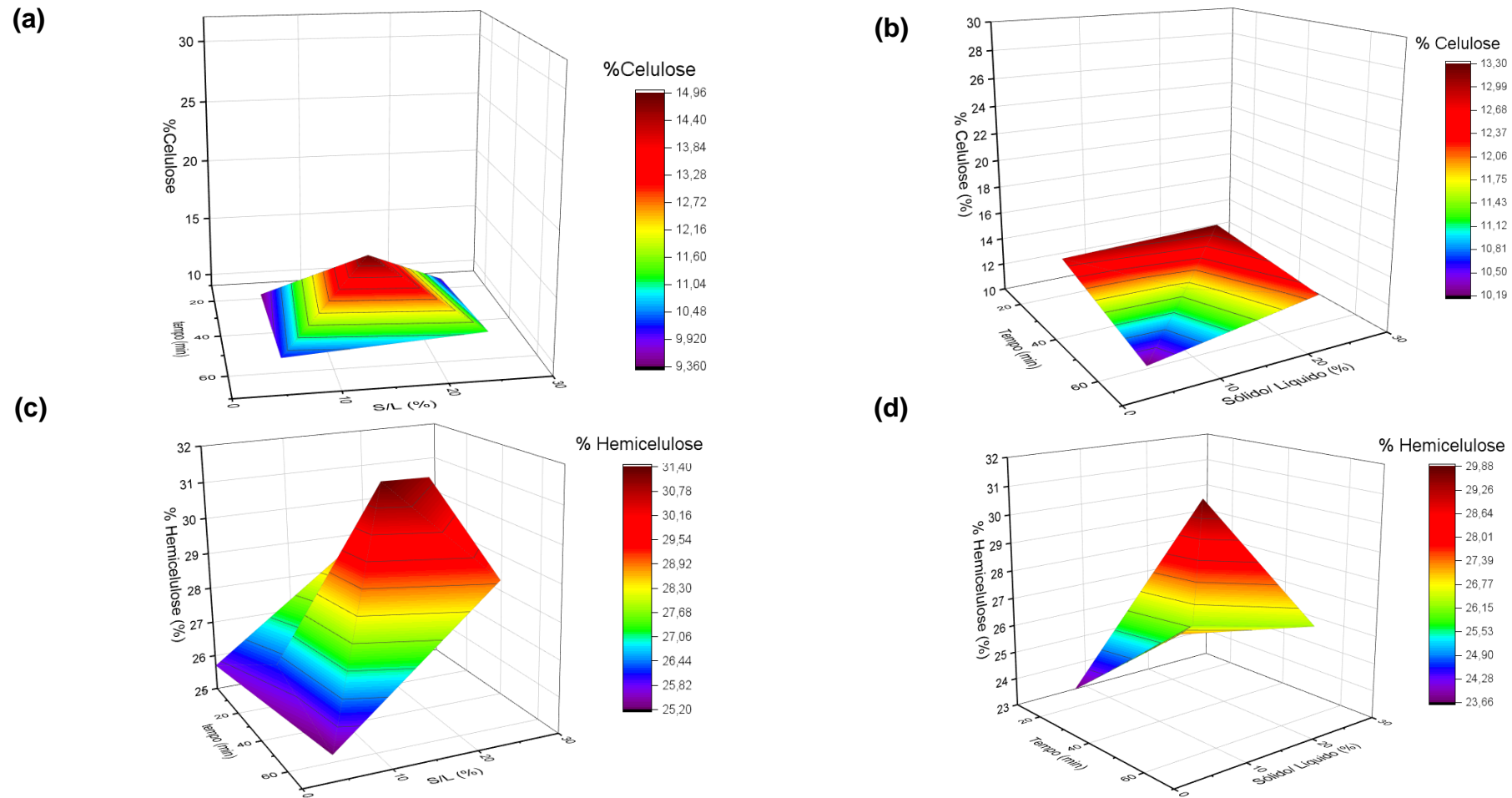
(b)

Exp	Sólido/ líquido	Tempo (min)	% celulose	% hemicelulose	% lignina
6	5	20	12,9	23,7	34,5
7	5	60	10,2	27,3	37,2
8	25	20	13,3	29,9	30,4
9	25	60	12,2	26,3	29,8
10*	15	40	11,6	26,2	35,7

\*Média da duplicata do ponto central

**Tabela 9** (a) Caracterização da fração sólida obtida por tratamento hidrotérmico a temperatura de 121°C (b) Caracterização da fração sólida obtida por tratamento hidrotérmico a temperatura de 124°C

Com base na Tabela 9 (a) e (b), as superfícies de resposta de quantidade de celulose e hemicelulose (%) em relação ao tempo de exposição e à taxa sólido/líquido para H<sub>1</sub> e H<sub>2</sub> foram plotadas na Figura 29.



**Figura 29 (a)** Superfície de resposta para a concentração de glucana (expressa em %celulose) do bagaço de malte pré-tratado à temperatura de 121°C. **(b)** Superfície de resposta para a concentração de glucana (expressa em %celulose) do bagaço de malte pré-tratado à temperatura de 124°C. **(c)** Superfície de resposta para a concentração de hemicelulose (expressa em %hemicelulose) do bagaço de malte pré-tratado a temperatura de 121°C. **(d)** Superfície de resposta para a concentração de hemicelulose (expressa em %hemicelulose) do bagaço de malte pré-tratado a temperatura de 124°C.

De acordo com a Figura 29 (a), pode-se observar que a maior concentração de celulose no bagaço pré-tratado na temperatura de 121°C, no espaço amostral definido, é em 40 minutos e sólido/líquido de 15%, referente ao experimento 5 (Ponto Central do planejamento experimental). Na Figura 30 (c) observa-se que nessa mesma condição, se encontra a maior concentração de hemicelulose. O mesmo fenômeno ocorre no bagaço de malte pré-tratado 124°C, onde a maior concentração de celulose é observada no pico de concentração da hemicelulose (Figura (b) e (d)). A redução na cristalinidade da celulose depende da estrutura e quantidade de hemicelulose ligada a ela, devido ao fato da hemicelulose estar envolta à celulose interagindo com todo complexo a sua volta. Esse comportamento indica que a estrutura da hemicelulose afeta diretamente a solubilização da celulose, como esperado para materiais de composição lignocelulósicas.

No pré-tratamento de 121°C, as concentrações de celulose e hemicelulose não seguiram comportamento estável durante o tempo de exposição ao pré-tratamento, o que pode ter sido ocasionado pela instabilidade da hemicelulose em altas temperaturas. Segundo Fengel e Wegener (1985), o ácido acético liberado no hidrotreatamento, cria um meio levemente ácido, com pH em torno de 4, sendo esse composto formado por reação baseado em temperatura com ligações éster, as quais são instáveis em altas temperaturas. Dessa forma, entende-se que a instabilidade da estrutura hemicelulósica tende a se tornar mais e menos amorfa, liberando celulose de forma inconstante.

A resposta do pré-tratamento de 124°C, diferente do experimento a 121°C, demonstra uma maior estabilidade, já que as quantidades de celulose e hemicelulose aumentam em função da relação sólido/ líquido, e de forma inversa, com o tempo. Quanto maior a relação sólido/líquido, maior é a tendência de o material não ser degradado pela ação da água em temperatura alta, devido à sua menor área superficial exposta para atuação dos íons H<sup>+</sup>. De acordo com a Figura 29 (b), a maior quantidade de celulose está presente em tempos menores de exposição ao pré-tratamento. Esse fator oferece vantagem em relação ao pré-tratamento à 121°C, em que a melhor condição era na região central, em torno de 40 minutos, resultando em maior tempo de tratamento do bagaço e, conseqüentemente, maior custo de processo.

Em 124°C, diferente do comportamento da celulose, a solubilização da hemicelulose foi melhor em tempos reduzidos de exposição. Esse fato pode ser devido à formação de compostos insolúveis após muito tempo de exposição, ficando na forma precipitada na fração sólida. Já a celulose, apresenta maior solubilização em tempos maiores, o que indica que, mesmo na presença desses precipitados provenientes da hemicelulose (não devem fazer ligações fortes com a celulose), a celulose continua sendo degradada durante o pré-tratamento.

A hemicelulose não é solubilizada, de forma expressiva, nas condições realizadas. No entanto, pode-se observar sua maior solubilização da hemicelulose na temperatura mais elevada. Esse fato pode ser explicado pelas condições de ataque enzimático e térmico sofrido pela hemicelulose durante o processo de produção de cerveja, exigindo pré-tratamento com severidades elevadas para conseguir alterar a sua estrutura.

Quando comparada a biomassa in natura, o pré-tratamento não foi eficaz para a solubilização da hemicelulose. Um fator que pode explicar tal fato é a temperatura amena (121°C e 124°C). Geralmente, os tratamentos hidrotérmicos ocorrem em temperaturas entre 150 – 230°C (GARROTE; DOMINGUEZ e PARAJÓ). Outro fator importante é a estrutura da hemicelulose do bagaço de malte. A hemicelulose é a principal fração lignocelulósica atacada durante os processos cervejeiros, tanto por enzimas quanto por temperatura em intervalo de tempo, causando mudança na estrutura original. Esse fator pode justificar a diferença do bagaço de malte, quando comparado ao comportamento de outros materiais lignocelulósicos, como o bagaço de cana, que não passa por etapas prévias enzimáticas e hidrotérmicas. As duas etapas principais responsáveis pelo fenômeno são:

✓ Processo de malteação da cevada:

Nessa etapa, ocorre a síntese e liberação de enzimas presentes no grão de cevada; parcial degradação por hidrólise enzimática dos compostos da parede celular, ceras, proteínas e amido; e redução da resistência estrutural dos tecidos do grão. Durante a germinação, algumas enzimas já presentes no grão são liberadas, como a  $\beta$ -amilase, e outras são sintetizadas durante o processo, como  $\alpha$ -amilase e protease. Além disso, nessa etapa, um dos principais polissacarídeos presente no grão de

cevada junto com o arabinóxilano, a  $\beta$ -glucana é degradada e, posteriormente, com atuação de enzimas, convertida em açúcares de cadeia menores. Dessa forma, a estrutura da parede celular, composta por hemicelulose, é significativamente alterada durante o processo de malteação.

✓ Processo de mostura

No processo de mostura, o malte de cevada é submetido às chamadas rampas de temperatura, em média de 45°C até 80°C, com intervalos de tempo em temperatura constantes para liberação e atuação das enzimas nas temperaturas de atuação específicas. Além das enzimas presentes no malte de cevada, normalmente são adicionadas enzimas auxiliares, como por exemplo:  $\beta$ -glucanase, pentosanase/xilanase, protease,  $\alpha$ -amilase e amiloglucosidase. A  $\beta$ -glucanase, responsável hidrólise das  $\beta$ -glucanas, e pentosanase, hidrolisa as pentoses, de modo a atuar diretamente na estrutura da hemicelulose.

Em suma, a fração hemicelulósica é submetida à ataque enzimático e térmico previamente ao pré-tratamento hidrotérmico proposto no presente estudo. Já a celulose, se manteve íntegra durante todo o processo cervejeiro apenas com ataque térmico durante a mostura, podendo ser mais suscetível à ação da temperatura e pressão do pré-tratamento hidrotérmico do que a hemicelulose. Esse fato indica a solubilização da celulose nas condições consideradas, enquanto a hemicelulose não foi alterada. Em outros materiais lignocelulósicos, a hemicelulose é solubilizada inicialmente por ser a mais suscetível ao hidrotreamento, enquanto a celulose é degradada após sua exposição mais fácil ao solvente, depois da solubilização da hemicelulose envolta à sua estrutura. No caso do bagaço de malte, a celulose pode estar mais disponível, devido à mudança de estrutura da hemicelulose, que é provável que esteja mais fracamente aderida à celulose.

Para quantificar, em termos de dissacarídeo, glicose, xilose e arabinose solubilizadas após o pré-tratamento hidrotérmico, as frações líquidas foram analisadas em CLAE e mostradas na **Tabela 10**.

(a)

T=121°C						
Amostra	tempo	% S/L	Dissacarídeo (g/l)	Glicose (g/l)	Xilose (g/l)	Arabinose (g/L)
1	20,0	5,0	0,72	0,10	0,03	0,05
2	60,0	5,0	0,92	0,25	0,07	0,15
3	20,0	25,0	4,58	0,69	0,20	0,29
4	60,0	25,0	4,84	1,23	0,34	0,73
5	40,0	15,0	2,44	0,58	0,19	0,42

(b)

T=124°C						
Amostra	tempo	% S/L	Dissacarídeo (g/l)	Glicose (g/l)	Xilose (g/l)	Arabinose (g/L)
6	20	5	0,95	0,35	0,11	0,30
7	60	5	0,95	0,31	0,10	0,26
8	20	25	3,85	1,34	0,43	1,23
9	60	25	4,54	1,25	0,40	1,19
10	40	15	2,71	0,80	0,28	0,69

**Tabela 10** (a) Caracterização da fração líquida obtida por tratamento hidrotérmico a pressão de 121°C; (b) Caracterização da fração líquida obtida por tratamento hidrotérmico a pressão de 124°C;

A presença de glucoligossacarídeos na fração líquida foi atribuída, por Carvalheiro (2009), à possibilidade de perpetuação de amido residual no bagaço de malte. No entanto, o processo de filtração do mosto nas grandes cervejarias, como a Ambev, inclui a lavagem do bagaço de forma exaustiva para garantir o máximo de extrato no mosto. Assim, a natureza do dissacarídeo presente na fração líquida pode ser oriunda do amido residual (maltose) ou da solubilização de celulose (celobiose).

Na temperatura de 121°C, observou-se maior solubilização da celulose no tempo de 20 minutos (5% e 25% de sólido/ líquido), porém na caracterização da fração líquida (a) foi visto que, nessa condição, a concentração do dissacarídeo e glicose são mais baixas, quando comparada com 60 minutos. Esse resultado indica que a celulose não está se degradando primeiramente em apenas dissacarídeo e monossacarídeo, podendo estar solubilizada na forma de outros oligossacarídeos solúveis não detectados pela caracterização em CLAE nos padrões definidos. Após mais tempo de exposição dos oligossacarídeos à temperatura e pressão (60 minutos), essas cadeias podem ter se degradado à glicose e celobiose, aumentando suas concentrações na fração líquida.



No pré-tratamento a 124°C, os experimentos realizados com 5% S/L, a celulose teve sua presença na fração sólida reduzida, o que indica a solubilização em açúcares no hidrolisado. Entretanto, pela Tabela 10, esses compostos não foram identificados na fração líquida, apresentando o mesmo comportamento obtido em 121°C. Já na relação sólido/ líquido de 25%, houve um pequeno aumento na fração do dissacarídeo, indicando conversão de glicose nesse composto. Enquanto a glicose reduziu de forma bem pequena e pode ser considerada constante.

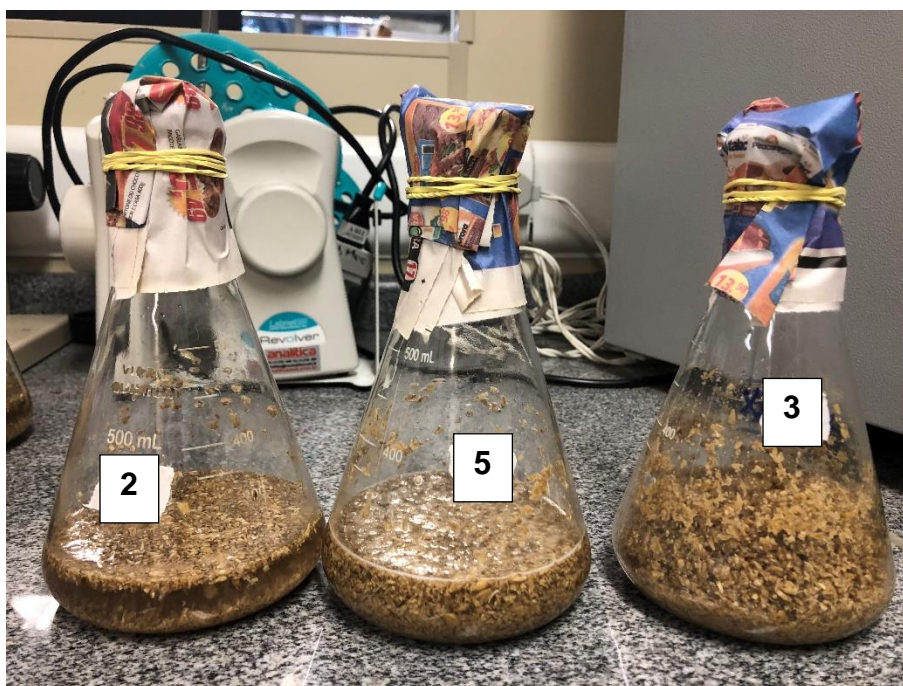
Como era esperado, houve liberação pequena de xilose e arabinose na fração líquida, indicando que a estrutura de hemicelulose foi pouco afetada pelo pré-tratamento. Pode-se, também, constatar que a quantidade de arabinose liberada na fração líquida é maior do que a xilose, em todas as condições aplicadas. De acordo com Carvalheiro *et al* (2004), a arabinose possui maior sensibilidade térmica do que a xilose, e por essa razão ela é liberada primeiro da estrutura da hemicelulose.

A formação de insolúveis proveniente da hemicelulose pode causar o aumento de sua quantidade identificada após pré-tratamento. Não foi possível detectá-los na forma de xilose e arabinose antes da precipitação, indicando que esses compostos insolúveis formado são provenientes de oligômeros não quantificados na fração líquida. Os teores das pentoses presentes em relação à mesma concentração líquido/ sólido permanecem similares em relação ao tempo de exposição.

Outro ponto importante em relação ao pré-tratamento é o tempo de exposição do material às altas temperaturas. Como a hemicelulose já tem a sua estrutura alterada, é possível que em tempos mais curtos de exposição, se atinja a solubilização dos açúcares. Durante os pré-tratamentos hidrotérmicos realizado nas condições de 20, 40 e 60 minutos, os resultados indicam que a fração hemicelulósica tenha degradado nos primeiros minutos, mas com o decorrer do tempo de exposição, tenham sido formados materiais insolúveis, precipitando na fração sólida. Esses compostos insolúveis podem ser oriundos da caramelização de açúcares devido ao elevado tempo de exposição, ou pela ocorrência de reação de Maillard, onde o grupo amino de aminoácidos e proteínas se ligam ao grupo carbonila dos açúcares para formação de compostos insolúveis.

Para evitar a precipitação por caramelização ou reação de Maillard, pode-se realizar o pré-tratamento em tempo menor de exposição, já que a formação de precipitados se dá em tempos maiores. Uma alternativa para obter melhores resultados de solubilização é fazer o pré-tratamento em rampas de temperatura e tempo, com remoção da fração líquida para não ocorrer precipitação em função do longo tempo de exposição.

Segundo Öhgren *et al* (2007), o pré-tratamento hidrotérmico não é suficiente para remover a lignina significativamente. O mesmo foi observado nos experimentos, no qual o pré-tratamento afetou pouco na estrutura da lignina. A pequena remoção da lignina pode ser visualmente detectada nos experimentos a 121°C, como mostrado na Figura 30.



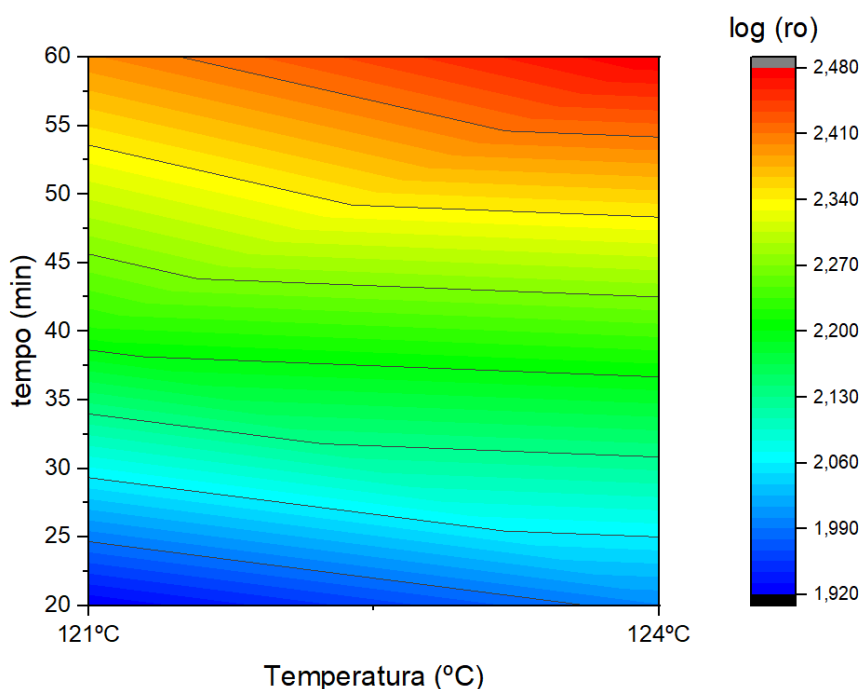
**Figura 30** Bagaço de malte pós tratamento hidrotérmico

O Erlenmeyer a esquerda (2) (pré-tratado por 60 minutos com concentração de sólido/líquido de 5%) e o da direita (20 minutos com concentração de sólido/líquido de 25%) apresentam coloração mais escura que a amostra 5 (40 minutos com concentração de sólido/líquido de 15%). Esse fator pode ser explicado pela menor presença de lignina na fração sólida da amostra 5.

Em suma, o pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de malte nas condições experimentais adotadas não pode ser comparada com outros materiais de composição lignocelulósica, como por exemplo, o bagaço de cana. As condições da estrutura hemicelulósica no bagaço de malte são diferentes das obtidos no bagaço de cana, no qual não passa por prévio processo enzimático e térmico. Dessa forma, o pré-tratamento direcionado ao bagaço de malte tem que ser mais explorado para otimização das condições de processo, visando maior disponibilidade da fração celulósica para conversão em glicose.

### 6.2.2.3 Cálculo do grau de severidade do pré-tratamento

O grau de severidade de cada condição de pré-tratamento foi calculado com base na Equação 12. A Figura 31 apresenta a resposta no grau de severidade em função da temperatura e do tempo. O maior valor foi de 2,480, à temperatura de 124°C e 60 minutos.



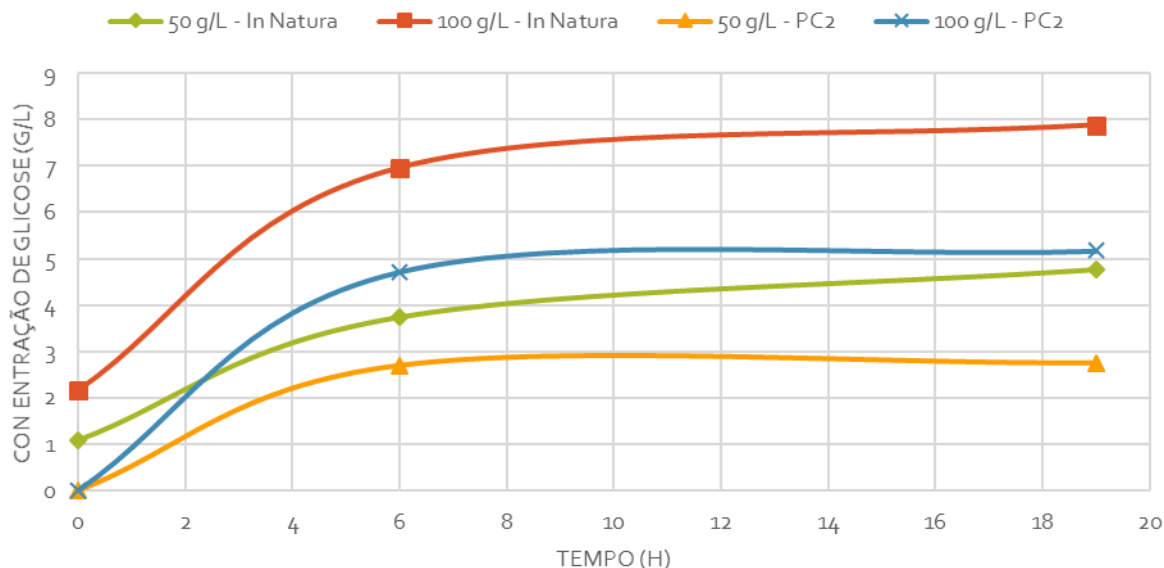
**Figura 31** Comportamento do grau de severidade em função do tempo e temperatura.

Pode-se observar que o grau de severidade aumenta com o aumento de temperatura e tempo, sendo o tempo com maior impacto no grau de severidade do

que a temperatura. Obteve-se que, considerando a mesma relação sólido/líquido, o grau de severidade em 20 minutos é muito próximo tanto em 121°C quanto em 124°C, resultando em valores próximos a 2. Enquanto que em 60 minutos, todos os valores de grau de severidade foram em torno de 2,5 para 121°C e 124°C. O ponto central obteve resultado entre 20 minutos e 60 minutos, cerca de 2,3. Por fim, o grau de severidade implicado nos experimentos foi relativamente baixo, quando comparados à trabalhos aplicados para bagaço de cana, como reportado por Souza (2016), em que o grau de severidade permeava entre 3,23 e 4,99.

#### 6.2.2.4 Hidrólise enzimática do bagaço de malte *in natura* e pré-tratado

Para obter o maior volume de xarope de glicose, foram utilizadas as condições com maior celulose presente para avaliação de conversão em glicose. O bagaço *in natura* e na condição 5 (15% S/L; 40 minutos e 121°C) foram tratados, por hidrólise enzimática, e as concentrações de glicose são mostradas na Figura 32.

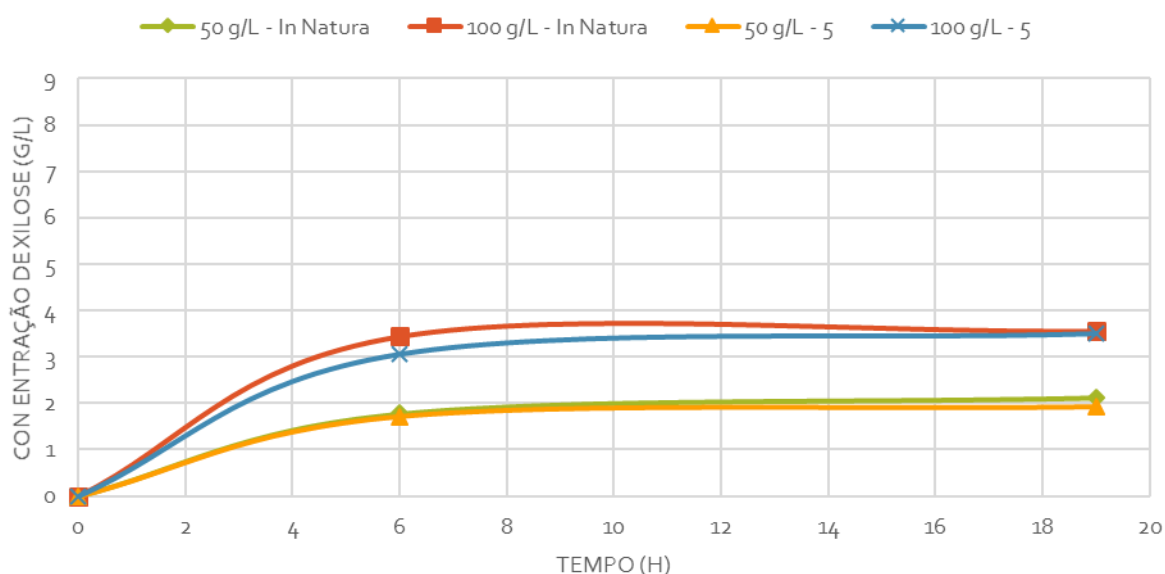


**Figura 32** . Perfil de concentração da glicose em função do tempo de hidrólise para cargas de sólido 50 g/L e 100 g/L por tempo (h)

No bagaço de malte *in natura*, o aumento de carga para 100 g/L causou um aumento de 55% na concentração de glicose em relação à carga 50 g/L. Da mesma

forma, no caso da bagaço pré-tratado, amostra 5, houve um aumento de 88,5% na concentração de glicose.

Como o coquetel enzimático utilizado apresenta atividade hemicelulásica, foi avaliada a solubilização da hemicelulose. A Figura 33 apresenta a concentração de xilose presente no hidrolisado.



**Figura 33** Perfil de concentração da xilose em função do tempo de hidrólise para cargas de sólido 50 g/L e 100 g/L

Pode-se observar que a concentração de xilose no in natura e no hidrotratado de mesma carga mostraram comportamento muito similares, o que indica que o pré-tratamento foi pouco eficaz para solubilização da hemicelulose nas condições adotadas. Esse resultado pode ser explicado pelo baixo grau de severidade do pré-tratamento, que não foi capaz de solubilizar a hemicelulose presente no bagaço.

Para melhor avaliação de conversão de celulose em glicose, foram calculadas as eficiências de hidrólise, pela Equação 12. e mostradas na **Tabela 11**.

Amostra	Concentração (g/L)	E <sub>H</sub> (%)
In Natura	50 g/L	40%
	100 g/L	31%
Pré-tratamento	50 g/L	33%
	100 g/L	31%

**Tabela 11** Eficiência de Hidrólise da celulose nas condições de hidrólise enzimática aplicadas

A eficiência enzimática utilizando carga de sólidos menores resultou em melhores conversões, esse fenômeno corrobora com relatos da literatura. A atuação das celulases é inibida pela grande concentração de produtos, tanto glicose quanto outros oligossacarídeos, diminuindo a sua eficiência enzimática. A inibição das enzimas celulásicas pela alta concentração de produto é reportada por Mais *et al* (2002), em que para a mesma carga enzimática, percebe-se aumento da conversão de celulose em glicose, ao diminuir a porcentagem de sólidos. Em seus experimentos, a hidrólise enzimática alcança 100% depois de 12 horas para um teor de sólido de 5%. Quando o teor de sólidos aumenta para 7,5% a hidrólise enzimática demora o dobro, e para 10%, atinge apenas 88% de hidrólise em 48 horas.

O bagaço in natura com carga de sólidos de 50 g/L obteve melhor eficiência enzimática, quando comparado ao pré-tratado com a mesma carga de sólidos. Esse fenômeno pode ser explicado pela maior presença de hemicelulose (31,4% no pré-tratado e 25,7% no in natura) e lignina (29,1% no pré-tratado e 27,7% in natura) ao redor da celulose (15% no pré-tratado e 16,5% no *in natura*) no pré-tratado. Essa configuração pode resultar em impedimento estérico ao ataque enzimático durante a hidrólise, resultando em menor eficiência no pré-tratado.

Os experimentos abordados nesse capítulo foram feitos como prova de conceito para a análise financeira do estudo de caso apresentado no capítulo 5. No estudo, foi considerada a conversão de celulose in natura de 0,44, e com pré-tratamento de 0,7. A parte experimental mostrou que o melhor cenário de conversão de celulose in natura é relativamente próximo ao descrito por Beldman, Hennekam e Voragen (1986) em bagaço de malte *in natura*. Porém, o impacto na análise financeira do projeto é grande. Considerando o valor obtido dos experimentos, 40% de eficiência de hidrólise celulósica, no estudo de caso, a receita anual da produção de xarope de

glicose reduziria em cerca de R\$1,2 Milhões, para aplicação de preço atual, e R\$0,8 milhões, preço competitivo. Resultando em um impacto em cerca de um ano no tempo de retorno do investimento.

No entanto, a solubilização da celulose em açúcares menores apresenta grande potencial para aumentar a receita. A hidrólise enzimática deve ser feita sem a remoção da fração líquida do pré-tratado, de modo que tenham mais açúcares disponíveis para conversão à glicose. O experimento não foi realizado dessa forma porque se esperava que a hemicelulose fosse solubilizada e, esses compostos poderiam inibir a celulase.

### 6.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS DA PRODUÇÃO DE XAROPE DE GLICOSE

De acordo com o estudo realizado no presente capítulo, foi constatado que o bagaço de malte tem aplicação para produção de xarope de glicose. A etapa de prova de conceito trouxe reflexões importantes para o trabalho, como:

- ✓ O bagaço de malte é um material com alto teor de fibra lignocelulósica, cerca de 60% em matéria seca.
- ✓ O pré-tratamento hidrotérmico foi realizado com diferentes temperaturas e concentrações sólido/ líquido. O grau de severidade foi baixo (1,92 – 2,48), com o objetivo de simplificar o processo em escala industrial. Mesmo no maior grau de severidade, 2,48, a hemicelulose presente na matriz não solubiliza, o que pode ser explicado pelo tratamento enzimático e temperatura realizados no processo de produção da cerveja.
- ✓ As condições de malteação e processo cervejeiro, rampas de temperatura por diferentes intervalos de tempo, pode ser considerado uma forma de pré-tratamento, em que a cristalinidade da hemicelulose seja alterada. Ao entrar em contato com condições brandas de pré-tratamento hidrotérmico, a celobiose e glicose são liberadas na fração líquida do pré-tratado. Esse comportamento pode ser uma vantagem em relação às outras biomassas lignocelulósicas, devido à menor necessidade de pré-tratamento.
- ✓ Na etapa da hidrólise enzimática, o coquetel enzimático Cellic CTEC-2 se mostrou eficiente por possuir enzimas que hidrolisam a celulose, para conversão de celobiose e glicose. A análise da variação carga de sólidos, 50 g/L e 100 g/L,

pode-se observar que o aumento da carga acarretou em maior liberação de celobiose e glicose. Porém, em termos de eficiência enzimática, os experimentos com menor carga de sólidos apresentaram maiores taxas de conversão, devido à inibição da celulase em concentrações elevadas de produtos.

- ✓ A maior eficiência enzimática foi nas condições de material lignocelulósico in natura e carga de sólido 50 g/L, com 40%. Desse modo, o pré-tratamento hidrotérmico nas condições avaliadas não se mostrou eficaz para atingir melhores resultados de conversão de celulose. O pré-tratamento solubilizou parte da celulose, porém com o aumento no teor de hemicelulose e lignina, a enzima teve pior eficiência, devido ao impedimento estérico.
- ✓ Devido a solubilização da celulose durante o pré-tratamento, comportamento diferente das outras matérias lignocelulósicas, acredita-se que a hidrólise enzimática deve ser conduzida sem a remoção da fração líquida, rica em açúcares, para obtenção de maior conversão em glicose.
- ✓ As condições de pré-tratamento devem ser otimizadas. Pelo estudo, conclui-se que o pré-tratamento deve ser conduzido em tempo de exposição mais reduzido (para evitar formação de precipitados) e temperaturas maiores (atingir a solubilização da hemicelulose).
- ✓ Esse resultado é promissor, já que a aplicação na indústria visa o processo com menor complexidade e maior eficiência, sendo sempre preferível não adicionar etapas de pré-tratamento. Porém, acredita-se que maiores eficiências de hidrólise podem ser atingidas se as condições de pré-tratamento forem otimizadas.

Por fim, os experimentos comprovaram a potencial utilização do bagaço de malte para produção de xarope de glicose.

## **7 CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS**

De maneira geral, a utilização do bagaço de malte para produção de xarope de glicose é uma alternativa promissora, porém o maior desafio ainda consiste em torna-la economicamente viável. O maior impacto no plano de negócio do projeto é a conversão da celulose em glicose, quanto mais otimizado esse parâmetro, maior será o retorno. Com os resultados obtidos, pode-se concluir que:



- ✓ Apesar de o retorno do projeto, calculado na etapa de Estudo de Caso, apontar para o cenário com pré-tratamento hidrotérmico, a etapa de prova de conceito não apresentou resultados similares a literatura e indica que, nas condições de pré-tratamento estudadas, o melhor cenário é sem tratamento hidrotérmico prévio.
- ✓ A melhor eficiência de hidrólise obtida pelos experimentos é próxima ao utilizado como base para o estudo de caso (BELDMAN, HENNEKAM E VORAGEN, 1986). No entanto, o impacto na análise financeiro do projeto é de redução na receita anual de cerca de R\$ 1,0 Milhão e um ano a mais de retorno de investimento.
- ✓ Outro fator relevante concluído pelo presente estudo é a possibilidade de utilização da fração líquida do pré-tratamento na hidrólise enzimática junto com a fração sólida. A composição da fração líquida, celobiose e glicose, pode aumentar a eficiência de hidrólise com a adição dessa fração ao processo de conversão enzimático.
- O estudo de caso e a etapa experimental realizada no presente estudo é o estudo preliminar para um projeto de implantação industrial. Para início do investimento na planta de produção de xarope de glicose são necessárias outras etapas para validação da tecnologia. Com base nesse estudo serão feitos testes em escala piloto para avaliação de parâmetros necessários e, posteriormente, com a instalação construída, serão feitos testes em escala industrial.

Alguns pontos interessantes para trabalhos futuros:

- Avaliação da hidrólise enzimática sem remoção da fração líquida do pré-tratado para obtenção de xarope de glicose.
- Evaporação e clarificação do xarope de glicose produzido, com análise sensorial e potencial presença de off-flavour.
- Otimização das condições de pré-tratamento com grau alimentício do bagaço de malte.
- Realização de testes em escala piloto para obtenção de volume maior de xarope de glicose.

## REFERÊNCIAS

AB INBEV. **Curso de produção de cerveja e refrigerante**. Rio de Janeiro, 2017.

AB INBEV Anheuser-Busch InBev reports Second Quarter 2018 and Half Year 2018 Results: **Press Release**. Bruxelas (Bélgica). Abinbev, 2018.

AKIYA, N.; SAVAGE, P Roles of Water for Chemical Reactions in High-Temperature Water. **Chemical Reviews, American Chemical Society** [s.l.], v. 102, n. 8, p.2725-2750, ago. 2002. (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/cr000668w>.

ALBERTS, B. Molecular biology of the cell. **Garland Science**. Nova Iorque. 2008.

ALCHETRON. **Saccharomyces pastorianus**. Disponível em: <<https://alchetron.com/Saccharomyces-pastorianus>>. Acesso em: 02 jul. 2018.

ALMAGUER, C. *et al.* Humulus lupulus- a story that begs to be told. A review. **Journal of The Institute Of Brewing**, [s.l.], p.289-314, set. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jib.160>.

ALMEIDA, A.B.C. **Efeitos biológicos do lúpulo: Resultados de ensaios clínicos em humanos**. 15 p. TCC (Graduação) - Curso de Ciências da Nutrição e Alimentação, Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Universidade do Porto, Porto. 2017.

AMBEV. Sustentabilidade: Pacto Global. 2018. Disponível em: <<https://www.ambev.com.br/sustentabilidade/>>. Acesso em: 02 jul. 2018.

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis**. 15th ed., Washington, D. C., 1975.

AQUARONE, E.. *et al.* Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos. v.4. 1ª Edição. São Paulo: Editora Edgard Blucher. 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10 004: RESÍDUOS SÓLIDOS – CLASSIFICAÇÃO**. 2 ed. Rio de Janeiro: Abnt 2004, 2004.

BASTOS, V. d. Etanol, Alcoolquímica e Biorrefinarias, **BNDES Setorial**, n. 25, p. 5-38, Rio de Janeiro, BNDES, mar. 2007.

BELDMAN, G. , HENNEKAM, J. e VORAGEN, A.G.J., Enzymatic Hydrolysis of Beer Brewers' Spent Grain and the Influence of Pretreatments, **Biotechnology and Bioengineering**, v.30, p. 668-671, 1987.

BRADFORD, M. M.; **Anal. Biochem.** 72, 248 p., 1976.

BRASIL. Decreto Nº 6.871, de 4 de junho de 2009. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 5 de junho de 2009. Seção 1, 20 p. 2009.

BRIGGS D.E., *et al* **Brewing Science and Practice**. Flórida: CRC Press LLC and Woodhead Publishing Limited. 863 p. 2004.

CANCELLARA W.R, Introdução à filtração de cervejas e os auxiliares filtrantes. **Revista Meio Filtrante**. Ano 3:10. 2004.

CARVALHEIRO, F. *et al*. Hydrothermal processing of hardwoods and agro-industrial residues: evaluation of xylo-oligosaccharides production. **NWBC**. 96–102 p., Finlândia. Setembro de 2009.

CASTRO, A.M. **Produção e propriedades de celulases de fungos filamentosos obtidas a partir de celulignina de bagaço de cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2006.

CERVBRASIL - Associação Brasileira da Indústria da Cerveja. Anuário, 2016. Disponível:[http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/anuario2016/161130\\_CervBrasilAnuario2016\\_WEB.pdf](http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/anuario2016/161130_CervBrasilAnuario2016_WEB.pdf). Acesso em: 19/08/2017

CENTRO DE TECNOLOGIA SENAI. Agraria.com.br. Disponível em: <[http://www.agraria.com.br/extranet/arquivos/agromalte\\_arquivo/mod\\_3\\_fermentacao\\_e\\_maturacao.pdf](http://www.agraria.com.br/extranet/arquivos/agromalte_arquivo/mod_3_fermentacao_e_maturacao.pdf)>. Acesso em: 11 nov. 2017.

CHARLES B.. **BEER: Tap into the art and science of brewing**. 3. ed. Nova Iorque: Oxford University Press, Inc., 2009.

CHERNEY, Y. **Overview of Brewing Science and Technology**. San Diego: University of California San Diego, 2017.

COUTO, M.A.P.G. **Consumo de oxigênio por Candida guilliermondii na produção de xilitol face a diferentes graus de aeração e concentrações de d-xilose**. Tese de Doutorado. Escola de Química, UFRJ. 2002.

D'AVILA, R. *et al*. Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**. [s.l.], v. 8, n. 2, 60-68 p. Dezembro de 2012. <http://dx.doi.org/10.4013/ete.2012.82.03>

DOUGLAS, J.M. **Conceptual Design of Chemical Processes** (Chemical Engineering Series). New York. 1988

DRAGONE, S.I.M. **Aproveitamento Integral de subproduto da indústria cervejeira em processos químicos e biotecnológicos**. 173 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biotecnologia Industrial, Escola de Engenharia de Lorena. Universidade de São Paulo, Lorena, 2007.

ESSIEN, J.P. e UDOTONG, I.R. Amino Acid Profile of Biodegraded Brewers Spent Grains (BSG). **Journal of Applied Sciences and Environmental Management** (ISSN: 1119-8362) Vol 12. Nº 1. 109 – 111 p. 2008.

FAN, L.; GHARPURAY, M.; LEE, Y. Cellulose Hydrolysis. **Springer-Verlag Berlin Heidelberg**. 168-169 p., 1987. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-72575-3>.

FAPESP. **Inovações cervejeiras**. <http://revistapesquisa.fapesp.br/2017/01/09/inovacoes-cervejeiras/> Acesso em 12 de Julho 2018.

FENGEL, D. AND WEGENER, G. Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. **Journal of Polymer Science: Part C: Polymers Letters**. v. 23. Nº11. 613 p. Nova Iorque: Estados Unidos. Novembro de 1985. <https://doi.org/10.1002/pol.1985.130231112>.

FOSTER, S. S. D.; HIRATA, R. C. A. Groundwater pollution risk evaluation: the methodology using available data. **Pan American Center for Sanitary Engineering and Environmental Science (CEPIS)**. 74 p. Lima, Peru: 1988.

FILLAUDEAU L., BLANPAIN-AVET P, DAUFIN G. Water, wastewater and waste management in brewing industries. **Journal of Cleaner Production**. V.14. nº5. 463-471 p. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2005.01.002>

GARROTE G.; DOMINGUEZ, H. e PARAJÓ, J.C. Hydrothermal processing of lignocellulosic materials. **Holz als Roh- und Werkstoff**. v. 57. p. 191-202, 1999.

GENCHEVA P *et al.*,. Hydrolisates from malt spent grain with potencial application in the bioethanol production. **Journal BioScience Biotechnology**. 135-141 p. Outubro de 2012.

GEORG-KRAEMER, J.E., MUNDSTOCK E.C. e CAVALLI-MOLINA, L. Developmental expression of amylase during barley malting. **Journal Cereal Science**. v. 33: 279-288 p. 2001.

GROHMANN, K.; TORGET, R. e HIMMEL, M. E.; **Biotechnology Bioengy Symp**. v.15. 59 – 80 p. 1985.

GROSSI, E.C. **Produção de etanol de segunda geração a partir de um derivado de celulose**. 75 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica). Instituto de Química. Universidade de Brasília. Rio de Janeiro. 2015.

GRUP TEFSA - **Filtro prensa con traslado superior**. Gruptefsa.com. Disponível em <[http://www.gruptefsa.com/filtro\\_prensa\\_con\\_traslado\\_superior](http://www.gruptefsa.com/filtro_prensa_con_traslado_superior)> Acesso em: 10 mar. 2018.

HENRISSAT B. A classification of glycosyl hydrolases based on amino-acid sequence similarities. **Biochemical Journal**. v. 280, 309-316 p. 1991.

IYER P.V. e ANANTHANARAYAN L., Enzyme stability and stabilization - Aqueous and non-aqueous environment. *Process Biochemistry*. v. 43: 1019 –1032 p. 2008. doi:. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.06.004>

KAMM, B.; GRUBER, P.R.; e KAMM, M. **Biorefineries – Industrial Processes and Products**. Wiley-VCH, ISBN: 3-527-31027-4, Weinheim, Alemanha. 2006.

KROTTENHALER, M.; e GLAS, K. **Handbook of Brewing**. Freiberg: Wiley-VCH, 2009.

KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting**. 2.<sup>a</sup> edição.VLB Berlin. Berlim (Alemanha): 1999.

LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. Carbohidratos em alimentos regionales Iberoamericanos. São Paulo: Universidade de São Paulo, 648p . 2006.

LALIC A. *et al.* Analysis of Grain Yield and Cytolytic Degradation of Winter and Spring Barley Cultivars. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**. V. 38. 88 – 91 p. 2010.

LEI, H.; CYBULSKA, I.; e JULSON, J. Hydrothermal Pretreatment of Lignocellulosic Biomass and Kinetics. **Journal Of Sustainable Bioenergy Systems**, [s.l.], v. 03, n. 04, 250-259 p., 2013. <https://doi.org/10.4236/jsbs.2013.34034>

McENTYRE, E.; RUAN, R. e FULCHER, R.G. Comparison of water absorption patterns in two barley cultivars, using Magnetic Resonance Imaging. **Cereal Chemistry**, St Paul, v. 75, n. 6, p. 792-795.1998.

MACHEINER, D. *et al.* Pretreatment and Hydrolysis of Brewer's Spent Grains. **Engineering in Life Sciences**. v. 3, n. 10, 401-405 p. 2003.

MAIS, U.; ESTEGHLALIAN, A.R. & SADDLER, J.N. Influence of Mixing Regime on Enzymatic Saccharification of Steam-Exploded Softwood Chips. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 98-100, p. 463-471.2002.

MARCONDES, L. **Clarificação do Mosto**. Jornada Cervejeira – Módulo Brassagem. Centro de Tecnologia SENAI alimentos e bebidas. [s.l.: s.n., s.d.]. < [http://www.agraria.com.br/extranet/arquivos/agromalte\\_arquivo/03-clarificacao\\_jornada\\_8h.pdf](http://www.agraria.com.br/extranet/arquivos/agromalte_arquivo/03-clarificacao_jornada_8h.pdf) > Acesso em 12 de Julho 2018.

MARCUSSO, E.F. e MULLER, C.V. **A CERVEJA NO BRASIL: O ministério da agricultura informando e esclarecendo**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2017.

MARCUSSO, E.F. **As Microcervejarias no Brasil Atual: Sustentabilidade e Territorialidade**. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade na Gestão Ambiental. Universidade Federal de São Carlos. Sorocaba. 2015.

MATHIAS, T.R.S. **Aproveitamento Biotecnológico De Resíduos Industriais Cervejeiros**. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2015.

MATHIAS, T.R.S.; MELLO, P.P.M.e SERVULO, E.F.C. Solid wastes in brewing process: A review. **Journal Of Brewing And Distilling**. v. 5, n. 1, p.1-9. Julho de. 2014. <https://doi.org/10.5897/jbd2014.0043>

MAYER, E. T. *et al.* **Caracterização nutricional de grãos integrais e descascados de cultivares de cevada**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, DF, v. 42, n. 11, 1635 – 1640 p, Novembro de 2007.

MEIER-DÖRNBERG, T. *et al.* The Importance of a Comparative Characterization of

Saccharomyces Cerevisiae and Saccharomyces Pastorianus Strains for Brewing. **MDPI: Fermentation**. v. 41, n. 3, 1-25 p. Suíça. Agosto de 2017.

METTLER TOLEDO. **Manual de Instruções: Analisador de Umidade HE53**. Greifensee: Mettler-toledo Ag, Laboratory Weighing, 2014.

MEUSSDOERFFER, F.G. A Comprehensive History of Beer Brewing. **Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets**. Weinheim. 2009.

MFRURAL. **Bagço de cevada**. 2018. Disponível em: <<http://www.mfrural.com.br/detalhe/bagaco-de-cevada-263318.aspx>>. Acesso em: 20 jun. 2018.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**. v. 31, n. 3. 426-428 p. Washington. 1959.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. Brewers' spent grain: Generation, characteristics and potential applications. **Journal of Cereal Science**, v. 43, n. 1, 1–14 p., 2006.

NC-IUBMB. Enzyme Nomenclature. <<https://www.qmul.ac.uk/sbcs/iubmb/enzyme/>>. Acesso em outubro de 2018.

NIEMI P. *et al.*. Pre-hydrolysis with carbohydratases facilitates the release of protein from brewer's spent grain. **Bioresource Technology**. v. 136: 529-534 p. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.076>

ÖHGREN K *et al*, Effect of hemicellulose and lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover. **Bioresource Technology** v. 98: 2503–2510 p. 2007. doi: 10.1016/j.biortech.2006.09.003

OVEREND, R.P., CHORNET, E e GASCOIGNE, J.A., Fractionation of lignocellulosics by steam-aqueous pretreatment [and discussion], **Philosophical Transactions of The Royal Society A Mathematical Physical and Engineering Sciences**. v. 321, 523 – 536 p. Abril de 1987.

PALMER, G.H. Achieving Homogeneity in Malting. **European Brewery Congress Proceedings**, 323-363 p., 1999.

PALMER, G.H.; SHIRAKASHI, T.; SANUSI, L.A. **Physiology of germination**. EBC Congress 1989. 63-74 p. 1989.

PEREIRA JR, N., COUTO, M. A. P. G., e SANT'ANNA L. M. M. **Series on biotechnology: Biomass of Lignocelulosic Composition for fuel ethanol production within the context of biorefinery**. Escola de Química/UFRJ. v.2, 1ª edição, 47 p. Rio de Janeiro. 2008

POIANI, L.M. **Projeto: Diversificação de Processos e Produtos da Agroindústria Canavieira**. Universidade Federal de São Carlos. 189 slides. São Carlos, São Paulo. 2008.

PRIEST F.G, e STEWART G.G.. **Handbook of Brewing**. CRC/ Taylor & Francis, 2006. 2 edição. 829 p. Flórida: 2006.

UFRGS. **Xarope de Glicose**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prcerea/barracereal/glic.htm> >. Acesso em: 22 nov. 2017.

UFRGS. **Cerveja**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prcerea/cerveja/defini.htm> >. Acesso em: 18 de Julho de 2018.

ULLMANN. **Levedura Seca de Cervejaria tipo II**. Disponível em: < <http://www.grupoullmann.com.br/levedura-seca-tipo-2.php> >. Acesso em: 28 mar. 2018.

RODRIGUES, M. I. e IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**: uma estratégia seqüencial de planejamentos. 1ª ed. Editora: Casa do Pão, Campinas, São Paulo, 2005.

SANTOS, M. Variability of brewer ' s spent grain within a brewery. **Food Chemistry**., v. 80, 17–21 p, 2003.

SANTOS, F.A. *et al.* Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, Viçosa, v. 35, n. 5, 1004-1010 p. Janeiro de. 2012. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/qn/v35n5/a25v35n5.pdf> >.

SHELL D.J. A bioethanol process development unit: initial operating experiences and results with a corn fiber feedstock. **Biosource Technology**. v. 91, nº2, 179 – 188 p. 2004. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00167-6](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00167-6)

SLUITER, A. *et al.* **Determination of Ash in Biomass Laboratory Analytical Procedure ( LAP )**. Technical Report NREL/TP-510-42619. Julho de 2005.

SLUITER, A. *et al.* **Determination of Extractives in Biomass. Laboratory Analytical Procedure ( LAP )** Technical Report NREL/TP-510-42619. p. 1–9, Janeiro, 2008.

SILVA V.F.N. *et al.* Fermentation of cellulosic hydrolysates obtained by enzymatic saccharification of sugarcane bagasse pretreated by hydrothermal processing. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. v. 38, nº 7, 809 – 817 p. 2011.

SOUZA, R.B.A. **Estudo do pré-tratamento hidrotérmico e hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar**. 106 p. Tese (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química). Universidade Federal de São Carlos. São carlos – SP. 2016.

SOUZA, W.R. Microbial Degradation of Lignocellulosic Biomass. **Sustainable Degradation Of Lignocellulosic Biomass - Techniques, Applications And Commercialization**, [s.l.]. 2013. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/54325>.

TAO L *et al.*, Process and techno-economic analysis of leading pretreatment technologies for lignocellulosic ethanol production using switchgrass. **Bioresource Technology**. v. 102. nº 24. 11105–11014 p. 2011.

TCU. Tribunal de Contas da União. Encargos Sociais e Trabalhistas. <http://portal.tcu.gov.br/lumis/portal/file/fileDownload.jsp?fileId=8A8182A155F0B71C0156049CA21F7ADF> Acesso em 12 de Outubro de 2018.

VÁSQUEZ, M. P. **Desenvolvimento de processo de hidrólise enzimática e fermentação simultâneas para a produção de etanol a partir de bagaço de cana-de-açúcar**. 2007. 205 Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

WHITE, J. S.; YOHANNAN, B. K. e WALKER, G. M. Bioconversion of brewer's spent grains to bioethanol. **FEMS Yeast Research**, v. 8, n. 7, 1175–1184 p. 2008.

GHO. World Health Organization Global Health Observatory. < <http://apps.who.int/gho/data/node.home> > 2014. Acesso em 10 de Novembro de 2018.

YOUNG T.W. Beer: Alcoholic beverage. Britannica Encyclopedia. < <https://www.britannica.com/topic/beer> > Acesso em 12 de Julho de 2018.

ZHU, F., DU, B., e BAOJUN X. A critical review on production and industrial applications of beta-glucans. **Food Hydrocolloids**. v. 52, 275-288 p, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.003>



**APÊNDICE 1 – PLANILHA DE CÁLCULOS DE SALÁRIOS E ENCARGOS DO  
TCU**

IDENTIFICAÇÃO DOS SERVIÇOS		
Tipo de Serviço	Unidade de medida	Quantidade total a contratar (em função da unidade de medida)
SUPERVISOR DE PLANTA INDUSTRIAL	Posto de Trabalho	1
<b>I - SALÁRIO ESTIMADO DO PROFISSIONAL (R\$)</b>		<b>3.464,00</b>
<b>II - COMPOSIÇÃO DA REMUNERAÇÃO (R\$)</b>		
Salário-base		3.276,60
Adicional de Insalubridade (20% do salário mínimo - Súmula 17 TST)		187,40
<b>TOTAL DA REMUNERAÇÃO (R\$)</b>		<b>3.464,00</b>
<b>III - ENCARGOS SOCIAIS INCIDENTES SOBRE A REMUNERAÇÃO (R\$)</b>		
<b>GRUPO A</b>		
A.01 INSS	20,000%	692,80
A.02 FGTS	8,000%	277,12
A.03 SESI/SESC	1,500%	51,96
A.04 SENAI/SENAC	1,000%	34,64
A.05 INCRA	0,200%	6,93
A.06 SEBRAE	0,600%	20,78
A.07 Salário Educação	2,500%	86,60
A.08 Riscos Ambientais do Trabalho – RAT x FAP	4,000%	138,56
<b>TOTAL - GRUPO A</b>	<b>37,800%</b>	<b>1.309,39</b>
<b>GRUPO B</b>		
B.01 13º Salário	8,333%	288,67
B.02 Férias (Incluindo 1/3 constitucional)	11,111%	384,89
B.03 Aviso Prévio Trabalhado	1,944%	67,36
B.04 Auxílio Doença	1,389%	48,11
B.05 Acidente de Trabalho	0,333%	11,55
B.06 Faltas Legais	0,278%	9,62
B.07 Férias sobre Licença Maternidade	0,074%	2,56
B.08 Licença Paternidade	0,021%	0,72
<b>TOTAL - GRUPO B</b>	<b>23,484%</b>	<b>813,48</b>
<b>GRUPO C</b>		
C.01 Aviso Prévio Indenizado	0,417%	14,44
C.02 Indenização Adicional	0,167%	5,78
C.03 Indenização (rescisão sem justa causa – multa de 40% do FGTS)	3,200%	110,85
C.04 Indenização (rescisão sem justa causa – contribuição de 10% do FGTS)	0,800%	27,71
<b>TOTAL - GRUPO C</b>	<b>4,584%</b>	<b>158,79</b>
<b>GRUPO D</b>		
D.01 Incidência dos encargos do grupo A sobre o grupo B	8,877%	307,49
<b>TOTAL - GRUPO D</b>	<b>8,877%</b>	<b>307,49</b>
<b>GRUPO E</b>		
E.01 Incidência do FGTS exclusivamente sobre o aviso prévio indenizado	0,033%	1,14
E.02 Incidência do FGTS exclusivamente sobre o período médio de afastamento superior a 15 dias motivado por acidente de trabalho	0,026%	0,90
<b>TOTAL - GRUPO E</b>	<b>0,059%</b>	<b>2,04</b>
<b>GRUPO F</b>		
F.01 Incidência dos encargos do Grupo A sobre os valores constantes da base de cálculo referente ao salário maternidade	0,273%	9,46
<b>TOTAL - GRUPO F</b>	<b>0,273%</b>	<b>9,46</b>
<b>TOTAL - ENCARGOS SOCIAIS (R\$)</b>	<b>75,077%</b>	<b>2.600,65</b>
<b>VALOR TOTAL DE REMUNERAÇÃO + ENCARGOS SOCIAIS (R\$)</b>		<b>6.064,65</b>
<b>IV - INSUMOS</b>		
EPI		27,83
Auxílio alimentação		429,16
Vale Transporte [(22 x 2 x (R\$ 3,00 + R\$ 2,00))]		220,00
Desconto legal sobre transporte (máximo 6% do salário-base)		-196,60
<b>TOTAL - INSUMOS (R\$)</b>		<b>480,39</b>
<b>VALOR TOTAL DE REMUNERAÇÃO + ENCARGOS SOCIAIS + INSUMOS (R\$)</b>		<b>6.545,05</b>

IDENTIFICAÇÃO DOS SERVIÇOS		
Tipo de Serviço	Unidade de medida	Quantidade total a contratar (em função da unidade de medida)
OPERADOR DE PLANTA INDUSTRIAL	Posto de Trabalho	1
<b>I - SALÁRIO ESTIMADO DO PROFISSIONAL (R\$)</b>		<b>1.696,40</b>
<b>II - COMPOSIÇÃO DA REMUNERAÇÃO (R\$)</b>		
Salário-base		1.696,40
Adicional de Insalubridade (20% do salário mínimo - Súmula 17 TST)		187,40
<b>TOTAL DA REMUNERAÇÃO (R\$)</b>		<b>1.883,80</b>
<b>III - ENCARGOS SOCIAIS INCIDENTES SOBRE A REMUNERAÇÃO (R\$)</b>		
<b>GRUPO A</b>		
A.01 INSS	20,000%	376,76
A.02 FGTS	8,000%	150,70
A.03 SESI/SESC	1,500%	28,26
A.04 SENAI/SENAC	1,000%	18,84
A.05 INCRA	0,200%	3,77
A.06 SEBRAE	0,600%	11,30
A.07 Salário Educação	2,500%	47,10
A.08 Riscos Ambientais do Trabalho – RAT x FAP	4,000%	75,35
<b>TOTAL - GRUPO A</b>	<b>37,800%</b>	<b>712,08</b>
<b>GRUPO B</b>		
B.01 13º Salário	8,333%	156,98
B.02 Férias (Incluindo 1/3 constitucional)	11,111%	209,31
B.03 Aviso Prévio Trabalhado	1,944%	36,63
B.04 Auxílio Doença	1,389%	26,16
B.05 Acidente de Trabalho	0,333%	6,28
B.06 Faltas Legais	0,278%	5,23
B.07 Férias sobre Licença Maternidade	0,074%	1,39
B.08 Licença Paternidade	0,021%	0,39
<b>TOTAL - GRUPO B</b>	<b>23,484%</b>	<b>442,39</b>
<b>GRUPO C</b>		
C.01 Aviso Prévio Indenizado	0,417%	7,86
C.02 Indenização Adicional	0,167%	3,15
C.03 Indenização (rescisão sem justa causa – multa de 40% do FGTS)	3,200%	60,28
C.04 Indenização (rescisão sem justa causa – contribuição de 10% do FGTS)	0,800%	15,07
<b>TOTAL - GRUPO C</b>	<b>4,584%</b>	<b>86,35</b>
<b>GRUPO D</b>		
D.01 Incidência dos encargos do grupo A sobre o grupo B	8,877%	167,22
<b>TOTAL - GRUPO D</b>	<b>8,877%</b>	<b>167,22</b>
<b>GRUPO E</b>		
E.01 Incidência do FGTS exclusivamente sobre o aviso prévio indenizado	0,033%	0,62
E.02 Incidência do FGTS exclusivamente sobre o período médio de afastamento superior a 15 dias motivado por acidente do trabalho	0,026%	0,49
<b>TOTAL - GRUPO E</b>	<b>0,059%</b>	<b>1,11</b>
<b>GRUPO F</b>		
F.01 Incidência dos encargos do Grupo A sobre os valores constantes da base de cálculo referente ao salário maternidade	0,273%	5,14
<b>TOTAL - GRUPO F</b>	<b>0,273%</b>	<b>5,14</b>
<b>TOTAL - ENCARGOS SOCIAIS (R\$)</b>	<b>75,077%</b>	<b>1.414,29</b>
<b>VALOR TOTAL DE REMUNERAÇÃO + ENCARGOS SOCIAIS (R\$)</b>		<b>3.298,09</b>