



**Estudo de viabilidade econômica de
produção de glucoamilase por fermentação
no estado sólido a partir de rejeito
agroindustrial**

Ana Paula Rios Mazin

Thiago Vetter de Andréa

Projeto de Final de Curso

Orientadores

Aline Machado de Castro, MSc

Prof.^a Andrea Medeiros Salgado, DSc

Fevereiro de 2010

**ESTUDO DE VIABILIDADE ECONÔMICA DE
PRODUÇÃO DE GLUCOAMILASE POR FERMENTAÇÃO
NO ESTADO SÓLIDO A PARTIR DE REJEITO
AGROINDUSTRIAL**

Ana Paula Rios Mazin

Thiago Vetter de Andréa

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química,
como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenheiro de
Bioprocessos.

Aprovado por:

Bernardo Dias Ribeiro, M.Sc.

Rodrigo Volcan Almeida, D.Sc.

Magali Christe Cammarota, D.Sc.

Orientado por:

Aline Machado de Castro, M.Sc.

Andréa Medeiros Salgado, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Fevereiro de 2010

Mazin, Ana Paula Rios e de Andréa, Thiago Vetter.

Título/Ana Paula Rios Mazin, Thiago Vetter de Andréa. UFRJ/EQ, 2010.

x, 85 p.; il.

(Monografia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2010.

Orientadores: Aline machado de Castro e Andrea Medeiros Salgado.

1. Fermentação no estado sólido. 2. Glucoamilases. 3. Aproveitamento de rejeitos. 4. Avaliação econômica 5. Monografia. (Graduação – UFRJ/EQ). 6. Aline Machado de Castro e Andrea Medeiros Salgado.

I. Título.

Às nossas famílias.

“O espírito sem limites é o maior tesouro do homem”

J. K. Rowling

AGRADECIMENTOS

Às nossas orientadoras por mostrarem o caminho e tornarem este trabalho possível.

Às equipes do Laboratório de Bioprocessos/COPPE/UFRJ e LaBiM/IQ/UFRJ, em especial à Daniele e à Mariana, pela ajuda e cooperação.

A todos os nossos professores pela inspiração e pelo empenho contínuo.

Agradecimentos Ana Paula:

Ao Thiago, pelo bom trabalho, pelo esforço, pelo apoio e principalmente pela paciência.

A Ana Christina Müller, pela orientação inestimável durante meu curto período de estágio.

A Leda dos Reis Castilho e Helen Conceição Ferraz pela maravilhosa orientação e inspiração durante a realização da minha primeira iniciação científica.

Aos meus professores do Centro Educacional de Niterói, em especial a Marcelo, Lubélia, Sérgio, Celso e Marco Antônio, sem os quais nada disso teria começado.

A Ermano Soares de Sá e Luiz Carlos Peçanha, sem os quais não seria a pessoa que sou.

A todos os meus amigos pelo apoio e paciência nesse momento difícil.

A minha família, em especial mamãe e papai, por tudo.

Agradecimentos Thiago:

A Ana Paula, pelo esmero, pelas diversas idéias e pela compreensão.

Aos meus amigos, distantes ou próximos, por partilharem das minhas alegrias e tristezas.

A minha família, por dar toda a compreensão e apoio que uma pessoa pode querer.

Resumo do Projeto de Final de Curso apresentado à Escola de Química da URFJ como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenheiro de Bioprocessos

ESTUDO DE VIABILIDADE ECONÔMICA DE PRODUÇÃO DE GLUCOAMILASE POR FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO A PARTIR DE REJEITO AGROINDUSTRIAL

Ana Paula Rios Mazin
Thiago Vetter de Andréa

Fevereiro, 2010

Orientadores: Profa. Andréa Medeiros Salgado, D.Sc.,
Aline Machado de Castro, M.Sc.

No paradigma atual de crescentes preocupações ambientais, o aproveitamento de resíduos agroindustriais e a viabilização da produção de combustíveis de fontes renováveis são dois temas constantemente abordados. Neste trabalho, a utilização da torta de babaçu visa agregar valor, através de sua utilização como insumo para uma indústria de bioprocessos, a este resíduo que é gerado da extração do óleo de babaçu, utilizado para diversos fins nas indústrias de alimentos e química fina. A fermentação no estado sólido (FES) é uma escolha lógica para cumprir este tipo de objetivo, visto que potencialmente produz uma gama de produtos de interesse tecnológico a baixos custos e com poucos impactos ambientais. Neste contexto, a produção de enzimas por fungos filamentosos por FES se torna altamente atrativa, pois alia a adequação destes microrganismos às condições deste tipo de processo ao seu potencial reconhecido de produção de diversas enzimas extracelulares. Em especial, as enzimas glucoamilases possuem aplicação estratégica na produção de etanol a partir de matérias-primas amiláceas, sendo que o etanol é o principal combustível renovável da atualidade, tornando a diminuição dos custos de sua produção essencial. Em vista do exposto, o presente trabalho estudou a viabilidade econômica do processo de produção de glucoamilases por fermentação no estado sólido da torta de babaçu utilizando o *Aspergillus awamori*, microrganismo reconhecido na literatura como excelente produtor de glucoamilases. Para tanto, foram realizados experimentos para determinar parâmetros essenciais do processo e o software SuperPro Designer foi utilizado para realizar a síntese e a avaliação econômica do processo. A planta simulada foi capaz de produzir um preparado enzimático a um custo de aproximadamente US\$ 5 por kg com capacidade de produção de 5 mil ton/ano, sendo que o preço de venda foi estimado em aproximadamente US\$ 7 por kg. Este resultado mostra que o processo apresenta grande potencial e sugere que estudos posteriores devem ser realizados visando seu desenvolvimento em um processo industrial.

ÍNDICE

Capítulo I.	Introdução	1
Capítulo II.	Revisão Bibliográfica	3
II.1.	Amilases	3
II.1.1.	Definição e Classificação das Amilases	3
II.1.2.	Aplicações das Amilases	4
II.1.3.	Mercado das Amilases.....	10
II.2.	Fermentação no estado sólido	12
II.2.1.	Definição	12
II.2.2.	Breve Histórico e Aplicações da FES.....	13
II.2.3.	Parâmetros da FES	14
II.2.4.	Aumento de Escala	17
II.3.	Babaçu	19
II.4.	Avaliação Econômica de Processos	21
II.4.1.	Custos de Operação	22
II.4.2.	Investimento	23
II.4.3.	Custos de Equipamentos.....	26
II.4.4.	Indicadores de Lucratividade.....	27
II.5.	Engenharia de Processos	28
II.5.1.	SuperPro Designer	29
Capítulo III.	Objetivos.....	31
Capítulo IV.	Materiais e Métodos	32
IV.1.	Parte Experimental	32
IV.1.1.	Matéria Prima	32
IV.1.2.	Moagem	33
IV.1.3.	Análise granulométrica.....	33
IV.1.4.	Determinação do Teor de Umidade.....	33
IV.1.5.	Microrganismo	33
IV.1.6.	Preparo do Inóculo	34
IV.1.7.	Fermentação.....	34
IV.1.8.	Extração	35
IV.1.9.	Determinação da Atividade Glucoamilásica	35
IV.1.10.	Determinação do Teor de Proteínas.....	36

IV.2.	Síntese do Processo	37
IV.2.1.	Operações e Equipamentos.....	37
IV.2.2.	Balanço de Massa	38
IV.2.3.	Dimensionamento.....	42
IV.3.	Avaliação Econômica	45
IV.3.1.	Custos dos Equipamentos.....	45
IV.3.2.	Custos de Materiais	47
IV.3.3.	Custo do Trabalho	48
IV.3.4.	Indicadores de Lucratividade.....	49
IV.3.5.	Análise de Sensibilidade.....	49
Capítulo V.	Resultados e Discussão.....	50
V.1.	Parte Experimental	50
V.1.1.	Granulometria da Torta de Babaçu.....	50
V.1.2.	Teor de Umidade	51
V.1.3.	Atividade Glucoamilásica.....	52
V.1.4.	Teor de proteínas	56
V.1.5.	Contagens de Esporos e Volumes de Água.....	58
V.2.	Síntese do Processo	58
V.2.1.	Balanço de Massa	60
V.2.2.	Dimensionamento.....	62
V.3.	Avaliação Econômica	63
V.3.1.	Ocupação dos Equipamentos.....	63
V.3.2.	Custos de Investimento.....	66
V.3.3.	Custos de Operação	67
V.3.4.	Indicadores de Lucratividade.....	69
V.3.5.	Análise de Sensibilidade.....	71
Capítulo VI.	Conclusão	75
	Referências Bibliográficas.....	77
	Anexo A1 – Comercialização de Amilases	82
	Anexo A2 – Balanços de Massa.....	92
	Anexo A3 – Inventário das Correntes	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma simplificado da produção de etanol a partir de milho por <i>dry-grind process</i>	9
Figura 2 - Gráfico do volume de importação por ano para outras amilases.....	11
Figura 3 - Gráfico do volume de importação por ano para outras amilases.....	12
Figura 4 - Um cacho de frutos de babaçu.....	19
Figura 5 – Distribuição de custos em uma planta industrial.....	23
Figura 6 – Distribuição de investimentos em uma planta industrial	25
Figura 7 – Metodologia do Trabalho.....	32
Figura 8 - Granulometria obtida para a torta de babaçu moída.....	50
Figura 9 – Determinação do teor de umidade da torta de babaçu	52
Figura 10 – Curva padrão para determinação de glicose no extrato	53
Figura 11 – Atividade glucoamilásica dos extratos.....	54
Figura 12 - Produtividade dos experimentos de fermentação	55
Figura 13 – Teores de proteína dos extratos.....	57
Figura 14 – Fluxograma proposto para o processo de produção de glucoamilase.....	59
Figura 15 - Gráfico de Gantt de ocupação dos equipamentos.....	65
Figura 16- Gráfico de análise de sensibilidade do custo de produção em relação ao preço da torta em valores absolutos.....	71
Figura 17 - Gráfico de análise de sensibilidade do custo de produção em relação ao preço da torta em variação percentual do valor base.....	72
Figura 18 - Gráfico de análise de sensibilidade do custo de produção em relação ao rendimento da fermentação em valores absolutos	73
Figura 19 - Gráfico de análise de sensibilidade do custo de produção em relação ao rendimento da fermentação em variação percentual do valor base	73

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Composição da torta de babaçu.....	20
Tabela 2 - Produção de amêndoas de babaçu (toneladas) por Estado.....	21
Tabela 3 - Produção de amêndoas de babaçu (toneladas) por mesorregião maranhense	21
Tabela 4 – Composição do Meio Amido.....	34
Tabela 5 – Equipamentos e Operações do Processo.....	37
Tabela 6 – Determinação da capacidade anual de utilização de babaçu da planta.....	38
Tabela 7 – Estimativa de utilização de torta por batelada.....	39
Tabela 8 – Parâmetros para Dimensionamento da Planta.....	42
Tabela 9 – Parâmetros de Operação.....	44
Tabela 10 - Parâmetros das equações de custos para os equipamentos.....	45
Tabela 11 – Derivação de outros custos de investimento.....	46
Tabela 12 - Preços para insumos.....	47
Tabela 13 – Determinação do teor de umidade da torta de babaçu.....	51
Tabela 14 – Curva padrão para determinação de glicose no extrato.....	53
Tabela 15 – Quantidades de glicose, atividades e produtividades da fermentação.....	54
Tabela 16 – Teores de proteína da fermentação.....	56
Tabela 17 – Contagens de esporos e volumes de água.....	58
Tabela 18 – Balanço de Massa da Planta.....	60
Tabela 19 – Dimensões dos equipamentos.....	62
Tabela 20 - Custos dos equipamentos.....	66
Tabela 21 - Outros custos de investimento.....	67
Tabela 22 - Custos das matérias-primas.....	67
Tabela 23 - Custo de utilidades.....	68
Tabela 24 - Custos Operacionais.....	68
Tabela 25 – Fluxo de Caixa (em milhares de US\$).....	70
Tabela 26 – Volume financeiro anual de Importações de α -amilases de <i>A. oryzae</i> por país.....	82
Tabela 27 – Volume financeiro anual de Exportações de α -amilases de <i>A. oryzae</i> por país.....	83
Tabela 28 – Volume financeiro anual de Importação de outras amilases por país.....	83
Tabela 29 – Volume financeiro anual de Exportação de outras amilases por país.....	85

Tabela 26 - Massa anual de Importações de α -amilases de <i>A. oryzae</i> por país.....	86
Tabela 27 - Massa anual de Exportações de α -amilases de <i>A. oryzae</i> por país.....	87
Tabela 28 – Massa anual de Importação de outras amilases por país	88
Tabela 29 - Massa anual de Exportação de outras amilases por país	89
Tabela 30 – Balanços de Massa.....	92
Tabela 31 - Inventário de Correntes	95

Capítulo I. Introdução

Em um país de imenso potencial e realização de agricultura e extrativismo vegetal como o Brasil, os resíduos de matéria orgânica destes processos, os rejeitos agroindustriais, abundam e, em diversas situações, aparecem como elementos de poluição e descaracterização de ambientes naturais. Assim, é desejável que se possuam meios de garantir um descarte de baixo impacto ambiental para estes resíduos.

Os rejeitos agroindustriais têm sido extensivamente estudados para o seu aproveitamento por diversos usos diretos e como insumos em processos que viabilizem seu aproveitamento gerando maior receita para o agronegócio e cumprindo a premissa de evitar que estes sejam despejados nos corpos receptores e poluam o meio-ambiente. Processos biotecnológicos de aproveitamento destes resíduos aparecem com grande potencial devido à possibilidade de produção de diversos produtos de maior valor agregado (Xue *et al.*, 1992; Santos, 2007).

O uso de rejeitos agroindustriais como insumos para a produção de produtos biotecnológicos é uma alternativa viável de processo de aproveitamento com diversas possibilidades, dada a grande variedade de rejeitos que surgem dos processos da agroindústria e dos muitos produtos biotecnológicos que se pode derivar destes.

A tecnologia de produção de enzimas por fermentação no estado sólido (FES) por fungos filamentosos, sobretudo a partir de rejeitos (em face do aspecto econômico) vêm sendo estudada há décadas. Nota-se crescente atenção nos últimos anos a esta classe de processos, devido a constatações de vantagens da FES sobre a amplamente difundida fermentação submersa como menor uso de água, produção de um produto mais concentrado e maior produtividade em relação às enzimas (Raghavarao *et al.*, 2003; Pandey, 2003).

Diversas enzimas extracelulares podem ser produzidas por fungos filamentosos em FES e facilmente recuperadas em processos de extração, dada a solubilidade destas proteínas em meio aquoso. Entre estas, amilases, proteases, lipases e celulasas podem ser encontradas (Soccol e Vandenberghe, 2003), sendo o perfil de produção de enzimas dependente da cepa do fungo filamentoso, do rejeito utilizado como matéria-prima no processo e das condições de fermentação (pH, temperatura, umidade, presença de aditivos e outros).

Amilases, em particular as glucoamilases, ganham importância estratégica para o desenvolvimento energético do Brasil, dado o investimento feito pelo país no

desenvolvimento do etanol produzido por fermentação alcoólica por *Saccharomyces cerevisiae* como biocombustível (Moraes, 2007; Souza, 2005). As glucoamilases atuam na hidrólise de amido em glicose e são vitais no aproveitamento de diversas biomassas contendo amido para a produção de biocombustível.

Capítulo II. Revisão Bibliográfica

II.1. Amilases

II.1.1. Definição e Classificação das Amilases

O amido é produzido pelas plantas como forma de armazenamento de glicose e é um dos polissacarídeos mais abundantes na natureza (Pandey *et al.* 2006). É formado por dois compostos de alto peso molecular, amilose (15 a 25%) e amilopectina (75 a 85%). Na amilose, resíduos de glicose ligados por ligação α -1,4 formam uma cadeia linear, enquanto a amilopectina consiste em uma cadeia ramificada com ligações α -1,4 e pontos de ramificação com ligações α -1,6.

As enzimas amilolíticas são hidrolases que tem como substrato de ação o amido, degradando este em polissacarídeos, oligossacarídeos e glicose.

São necessárias diversas enzimas amilolíticas agindo em conjunto para converter completamente o amido em glicose. De forma geral, as enzimas amilolíticas são categorizadas de acordo com seu modo de ação em quatro grupos (van der Maarel *et al.*, 2002):

- endo-amilases: catalisam a hidrólise de ligações α -1,4 no interior do polímero de forma randômica, gerando oligossacarídeos lineares e ramificados. Dentre estas, a mais conhecida é a α -amilase (EC 3.2.1.1.).
- exo-amilases: agem nas extremidades das cadeias de amilose e amilopectina, catalisando a hidrólise de ou exclusivamente ligações α -1,4, como no caso da β -amilase (EC 3.2.1.2), ou tanto de ligações α -1,4 quanto α -1,6, como no caso das glucoamilases (EC 3.2.1.3). O produto principal de hidrólise fornecido pela β -amilase é a maltose; o da glucoamilase é a glicose.
- enzimas desramificadoras: catalisam a hidrólise exclusivamente de ligações α -1,6 presentes nos pontos de ramificação, e são as isoamilases (EC 3.2.1.68) e pululanases (EC 3.2.1.41).
- transferases: enzimas capazes de catalisar a hidrólise de ligações α -1,4 em uma região da molécula e a transferência da molécula intermediária para um outro ponto, criando uma nova ligação.

Quando determinamos analiticamente a atividade glucoamilásica de um extrato complexo contendo um conjunto desconhecido de amilases através da geração de

glicose pela hidrólise enzimática do amido, estamos de fato medindo o resultado do efeito sinérgico das diversas enzimas na degradação do amido. Para medirmos a atividade endoamilásica, utilizamos a degradação do amido, e não a geração de glicose, como parâmetro.

As α -amilases são tradicionalmente produzidas por fermentação submersa, empregando espécies de *Bacillus*. Estas alfa-amilases têm a característica de alta termoestabilidade, o que as torna desejáveis para processos de gelatinização (Regulapati, 2007).

As glucoamilases podem ser produzidas por fermentação submersa, fermentação no estado sólido ou semi-sólido, com diversas configurações de reatores (Norouzian *et al.*, 2005). O maior foco de produção de glucoamilases é dado aos processos que utilizam fungos, em especial *Aspergillus niger* e *Rhizopus oryzae*. Isto se dá devido a característica dessas amilases de possuírem termoestabilidade razoável e atuação ótima em pHs ácidos (4-5).

II.1.2. Aplicações das Amilases

II.1.2.1. Indústria Têxtil

A etapa de engomagem na indústria têxtil consiste na aplicação de uma goma ao fio com o objetivo de conferir maior resistência mecânica para a etapa de tecelagem. Dentre as gomas utilizadas neste processo se encontra a goma de fécula de mandioca, cuja composição é rica em amido (Coelho *et al.*, 2008).

Posteriormente, essa goma deve ser removida na etapa de degomagem. Esta etapa pode ser realizada pelo emprego de agentes químicos fortes, como ácidos bases e agentes oxidantes. No entanto, há muitos anos o emprego de enzimas amilolíticas nesta etapa é preferido (Coelho *et al.*, 2008) devido a sua alta eficiência e especificidade.

Além de degradarem o amido sem danificarem as fibras de tecido, constituídas de celulose, as enzimas amilolíticas apresentam a vantagem adicional de gerarem efluentes líquidos mais aceitáveis do ponto de vista ambiental do que aqueles que seriam gerados em um processo utilizando agentes químicos.

As enzimas amilolíticas preferidas para esta aplicação são α -amilases termoestáveis de origem bacteriana, que geram oligossacarídeos solúveis e são capazes de suportar as altas temperaturas empregadas.

Outras enzimas utilizadas na indústria têxtil incluem celulases, proteases, pectinases e catalases.

II.1.2.2. Produção de Detergentes

Uma grande diferença entre enzimas na produção de detergentes e outras aplicações de enzimas, é que na primeira as enzimas estão na sua forma ativa no produto final, enquanto que na maioria das outras, são utilizadas auxiliando alguma etapa do processo produtivo.

Diversos tipos de enzimas são utilizados para esta finalidade. Proteases, por exemplo, são utilizadas com o objetivo de removerem manchas de origem protéica, como sangue, ovo e suor; lípases, para remover manchas de gordura, como batom, frituras, manteiga, óleos e manchas de colarinhos e punhos (Coelho *et al.*, 2008).

As amilases são empregadas com dois objetivos: remover resíduos de alimentos que contém amido, tais como purê de batatas, macarrão, mingau de aveia e chocolate e para ajudar a remover manchas de outras origens que tenham sido retidas no tecido por consequência de um efeito de cola do amido. As amilases agem catalisando a hidrólise do amido em oligossacarídeos solúveis, permitindo que estes sejam removidos do tecido e assim eliminando as manchas.

As enzimas utilizadas em detergentes têm que ser capazes de atuar em condições muito adversas, como na presença de tensoativos iônicos e não-iônicos, perfumes, sais, pH alcalino, elevadas temperaturas e etc. As amilases empregadas para esta aplicação são de forma geral produzidas por fermentação submersa com *Bacillus licheniformis* ou *Bacillus amyloliquefaciens* (Coelho *et al.* 2008).

II.1.2.3. Panificação

Na fabricação do pão, as enzimas naturalmente presentes na semente do trigo são responsáveis por catalisar a hidrólise do amido, liberando açúcar para que a levedura de panificação possa realizar o processo fermentativo.

Como muitas vezes o grão é deficiente em amilases, duas alternativas de complementação da farinha se apresentam: adição de açúcar ou de amilases, a segunda sendo preferida pois libera açúcar de forma gradativa, de acordo com as necessidades da levedura (Coelho *et al.*, 2008).

A adição de amilases pode ser feita através da complementação com extrato de malte, rico em α -amilases, ou preparados comerciais de enzimas. Como a composição e

nível de atividade do extrato de malte podem variar muito, os preparados enzimáticos são preferíveis, até porque desta forma é possível padronizar a atividade amilolítica na farinha.

Além disso, as amilases normalmente utilizadas, de origem fúngica, ao contrário das enzimas do malte, têm seu ótimo de atividade em torno de 50-60°C, não permanecendo ativas por muito tempo a temperaturas acima de 70°C. Isto é relevante para manter as características organolépticas necessárias ao pão.

Outras aplicações de amilases na indústria de panificação incluem:

- Adição de α -amilases e glucoamilases em massas refrigeradas ou congeladas, para garantir o teor de açúcar necessário na hora de assar;
- Adição de amilases diversas para retardar o processo de envelhecimento do pão.

II.1.2.4. Cervejaria e Bebidas Alcoólicas

No processo de produção de cerveja, o malte de cevada é o responsável por fornecer as enzimas para degradação do amido presente no próprio malte e nos adjuntos. Estas enzimas são as α e β -amilases, que em conjunto catalisam a hidrólise do amido a maltose e polissacarídeos de tamanhos variados, contendo ligações α -1,6. Posteriormente, a maltose é degradada pelas maltases também presentes no malte, gerando glicose, e os polissacarídeos não atacados pelas enzimas permanecem no mosto, fornecendo o corpo da cerveja.

O processo de malteação da cevada consiste na germinação dos grãos, durante a qual há a produção das enzimas para do amido presente no grão e este se torna mais solúvel. Este processo, no entanto, é caro, e a quantidade e proporção das enzimas dependem amplamente da qualidade da cevada utilizada e das condições utilizadas no processo de malteação.

Por esta razão, estuda-se a alternativa de substituir parte do malte de cevada por cevada não germinada, aliando a isso a complementação com amilases industriais (Coelho *et al.*, 2008). Isto permitiria não só uma economia considerável no processo como também uma maior facilidade de controle.

Outra aplicação de amilases na fabricação de cerveja é na liquefação dos adjuntos, que de forma geral são resistentes ao ataque enzimático e de difícil degradação mesmo após fervidos. Neste caso, α -amilases termofílicas são utilizadas para catalisar a pré-hidrólise do amido em cadeias menores, para facilitar o ataque do malte de cevada.

As amilases utilizadas na indústria de bebidas alcoólicas de forma geral podem vir do malte ou de compostos enzimáticos comerciais. Elas participam dos processos de liquefação e sacarificação do amido, essenciais para liberar a glicose necessária para o processo fermentativo, conforme discutido anteriormente.

De forma geral, na liquefação, são utilizadas α -amilases termofílicas produzidas por *Bacillus* em fermentação submersa; na sacarificação, são empregadas glucoamilases.

II.1.2.5. Indústria de Sucos

Na indústria de sucos, enzimas são empregadas para diversas finalidades, entre elas:

- Facilitar a prensagem da fruta, aumentando o rendimento de suco;
- Ajudar na liquefação das frutas, para maximizar o aproveitamento da matéria-prima;
- Aumentar o rendimento de ácidos e substâncias que conferem cor e aroma;
- Clarificar o suco, aumentando a estabilidade;
- Quebrar carboidratos poliméricos, como pectinas, hemicelulose e amido.

As amilases são empregadas nas etapas de liquefação e de clarificação: na etapa de liquefação, a hidrólise do amido ajuda a liberar o suco que fica retido na polpa por efeito de gelatinização; na clarificação, elas catalisam a hidrólise do amido do suco, com o objetivo de estabilizar e melhorar as propriedades sensoriais (Coelho *et al.*, 2008).

II.1.2.6. Produção de Etanol Combustível

O número de pesquisas voltadas para o melhoramento dos processos de produção de etanol vem aumentando por razões econômicas e ecológicas (Prasad *et al.*, 2007). Neste contexto, a busca por matérias-primas que apresentem vantagens em ambos esses aspectos é essencial, tendo em vista que o preço final do etanol depende fortemente de suas características.

De forma geral, as matérias-primas passíveis de serem utilizadas para a produção de etanol por processos fermentativos podem ser classificadas da seguinte forma (Cardona e Sánchez, 2007):

- *Matérias-primas sacaríneas*: que contém açúcar fermentável disponível. Dentre estas, pode ser destacada a cana-de-açúcar, amplamente utilizada para a produção de etanol combustível no Brasil;
- *Matérias-primas amiláceas*: o açúcar disponível se encontra na forma de amido, que deve ser hidrolisado para gerar açúcares fermentáveis. Dentre estas, pode ser citado o milho, matéria-prima mais utilizada nos EUA;
- *Matérias-primas lignocelulósicas*: o açúcar disponível se encontra na forma de celulose que, como o amido, precisa passar por um processo de hidrólise antes que a fermentação possa ocorrer. Este tipo de matéria-prima apresenta as vantagens de ser altamente disponível e de baixo custo, porém seu aproveitamento em nível industrial ainda não é uma realidade. Nesta categoria podemos citar o bagaço de cana e a palha de trigo.

Alguns fatores associados à utilização de matérias-primas amiláceas tornam este tipo de processo menos atrativo economicamente quando comparado a processos empregando matérias-primas sacaríneas (Moraes, 2007). Dentre estes fatores, a necessidade de hidrólise é um dos decisivos no aumento dos custos, pois envolve gastos energéticos com o aquecimento necessário para gelatinização e liquefação do amido e com a adição de enzimas amilolíticas nas etapas de liquefação e sacarificação.

Apesar deste fato, a produção de etanol a partir de fontes alternativas à cana-de-açúcar vem ganhando espaço no Brasil graças a diversos fatores. Primeiramente, a oferta de caldo de cana para a produção de etanol, e portanto, seu preço final, varia inversamente com o preço do açúcar, apesar das tentativas do governo de controlar essa variação. Em segundo lugar, com o aumento da demanda de etanol previsto para os próximos anos devido à crescente preocupação ambiental, a área de cana-de-açúcar plantada para suprir o mercado teria que aumentar muito, tornando necessária a busca por novas fontes e processos mais eficientes (Moraes, 2007).

Alternativas para diminuir o custo de produção de etanol a partir de matérias-primas amiláceas tem sido alvo de inúmeras pesquisas. Uma forma de contornar as desvantagens da utilização deste tipo de matéria-prima inclui conduzir a fermentação e sacarificação simultaneamente, através da adição de amilases na etapa de fermentação ou pelo emprego de consórcios microbianos (Cardona e Sánchez, 2007). Outra forma é pelo emprego de amilases de fontes mais baratas, por exemplo

produzidas pelo aproveitamento de resíduos agroindustriais, como é o foco deste trabalho.

Dentre as matérias-primas amiláceas que podem ser utilizadas na produção de etanol no Brasil, a mandioca ganha destaque pela sua característica de não ser sazonal e não necessitar de solo de alta qualidade, podendo ser cultivada em todo o território nacional (Moraes, 2007). Algumas desvantagens da mandioca incluem alto tempo de colheita (10 a 20 meses) e alta suscetibilidade a bacterioses (Souza, 2005)

Em termos mundiais, a mandioca também é considerada uma matéria-prima importante (Moraes, 2007, Prasad *et al.*, 2007). Na China, por exemplo, a mandioca foi recentemente utilizada como matéria-prima para uma planta de produção de 200000 toneladas de etanol por ano (Liu, 2006).

O milho, no entanto, permanece como a matéria-prima amilácea mais utilizada para a produção de etanol no mundo, devido à sua larga aplicação para este fim nos Estados Unidos (Girard e Fallot, 2006). Apenas em 2009, foram produzidos nos Estados Unidos mais de 35 bilhões de litros de etanol (RFA, 2010).

O processo mais utilizado de produção de etanol nos Estados Unidos é o chamado *corn dry-grind process* (Kwiatkowski *et al.*, 2006). Este processo emprega o milho como matéria-prima e é responsável por praticamente toda a produção de etanol dos Estados Unidos

Um fluxograma simplificado que exemplifica bem a etapa de *upstream* do *corn dry-grind process* de produção de etanol pode ser observado na Figura 1 abaixo (adaptado de Kwiatkowski *et al.*, 2006):

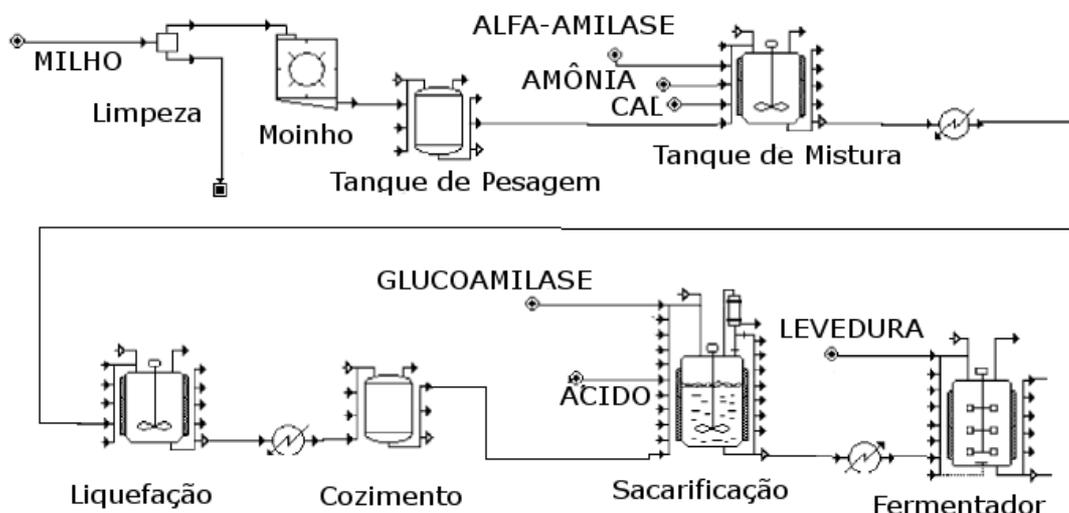


Figura 1 – Fluxograma simplificado da produção de etanol a partir de milho por *dry-grind process*

Neste processo, são empregados aproximadamente 0,003kg de glucoamilases por kg de etanol produzido, o que resulta em uma demanda de aproximadamente 80 mil toneladas de glucoamilases por ano para suprir a produção nacional anual de etanol nos Estados Unidos (Kwiatkowski *et al.*, 2006).

II.1.3. Mercado das Amilases

As amilases estão inseridas no contexto de mercado das enzimas e uma análise, mesmo que breve do mercado de enzimas possui vários complicadores, pois dois produtos enzimáticos, mesmo que possuam a mesma ação enzimática (isto é, catalisem a mesma reação) terão coeficientes de atividade diferentes, diferentes tolerâncias a variações de temperatura, diferentes perfis de atividade *versus* temperatura, diferentes purezas (com diferentes atividades específicas) e, de fato, estarão sendo comercializados com focos em diferentes nichos deste mercado.

O fato é que o mercado de amilases é fragmentado em diversos mercados menores, a depender da aplicação desejada para a enzima. Comparações entre preços em um mercado de diferentes nichos poderiam levar a conclusões pouco precisas. Assim, um preço levantado para a aplicação desejada é mais apropriado do que o preço geral praticado. Perkis *et al.* (2008) sugerem o preço para glucoamilase de aplicação em sacarificação para fermentação de \$ 3,15/lb, baseado em consulta aos fornecedores.

O Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior via Internet, (ALICE-Web) do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC), que se presta a fornecer informações relativas à movimentação de produtos através das fronteiras do país (em importação ou exportação), possui dois registros para amilases: um deles abrangendo somente a α -amilase de *Aspergillus oryzae* e outro para outras amilases.

A Figura 2 (fonte: ALICE-Web, 2010) apresentada a seguir mostra as transições de capital em decorrência da importação de enzimas classificadas no registro de outras amilases. São disponíveis também dados a respeito de quantidades (em kilogramas) comercializados, no entanto, estes não são apresentados aqui justamente pela não uniformidade do mercado e dos produtos presentes no registro. A massa de preparado enzimático comercializado é pouco informativa e em face do exposto e, assim, torna-se mais interessante avaliar o desempenho econômico do setor.

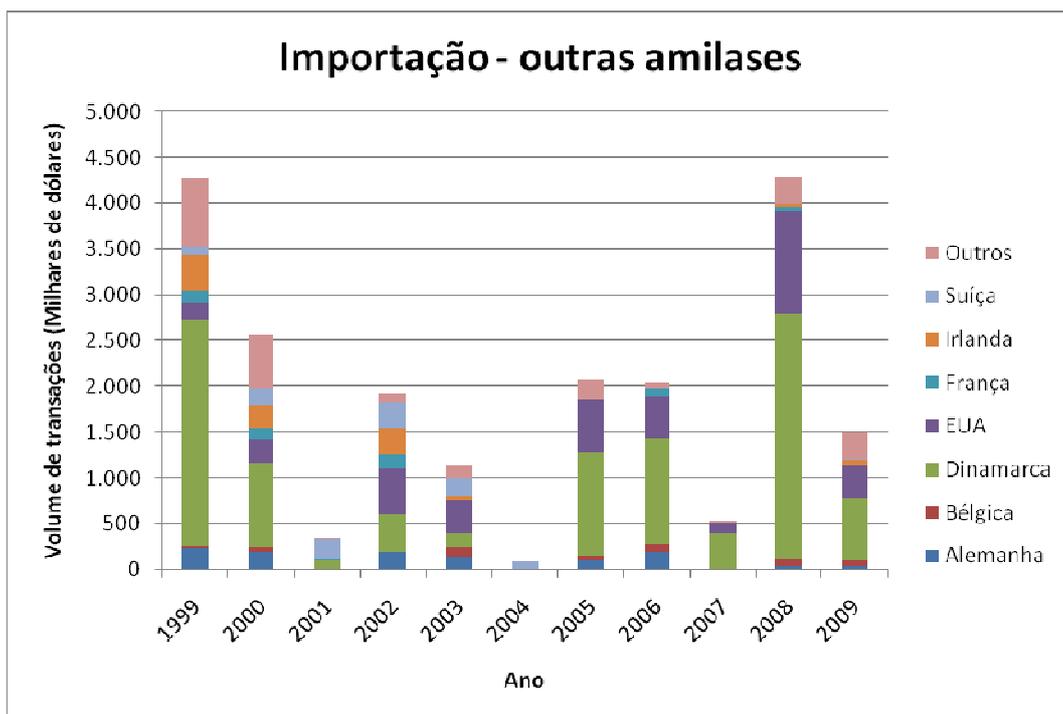


Figura 2 - Gráfico do volume de importação por ano para outras amilases

Nota-se que o Brasil importa na maioria dos anos uma apreciável quantia da Dinamarca. A empresa Novo Nordisk, maior produtora mundial de enzimas (com 47% do mercado segundo Nordisk, 2009) é sediada na Dinamarca, e a esta empresa podem ser atribuídas estas volumosas transações.

Na Figura 3 (fonte: ALICE-Web, 2010) a seguir é apresentado o gráfico de exportações de amilases sob o registro de outras amilases. Pode-se notar uma tendência para o aumento da exportação desde o ano de 2004, tendo sido possivelmente afetada em 2009 pelos reflexos da crise econômica mundial sobre os mercados e parques industriais externos. Nota-se que o maior comprador de amilases produzidas no Brasil é o Japão, mas que muitos países da América Latina são compradores de amilases produzidas no Brasil.

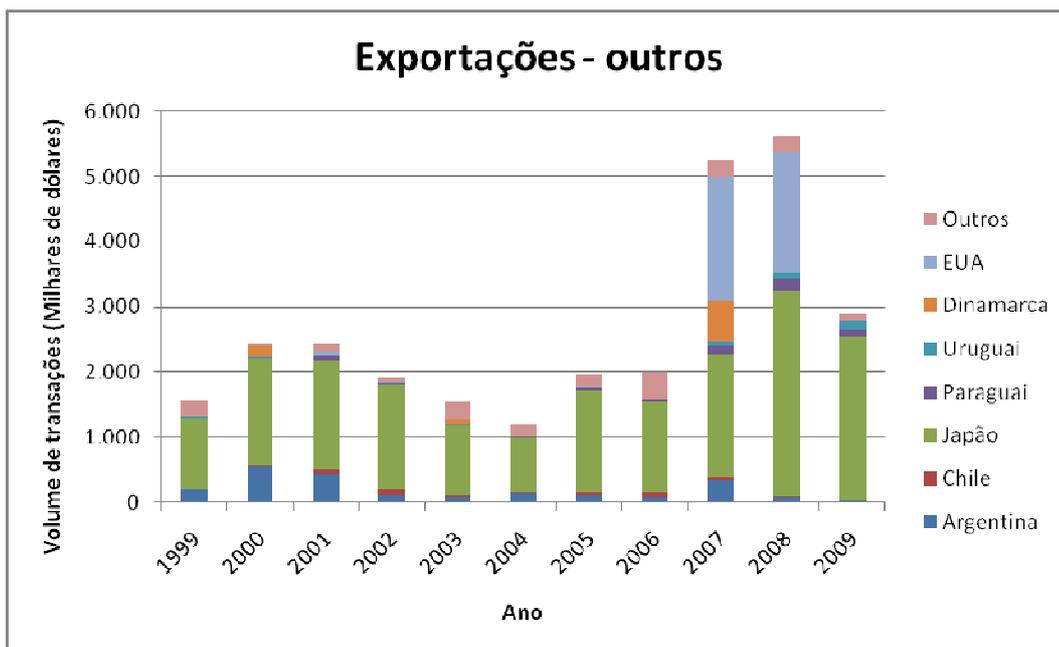


Figura 3 - Gráfico do volume de importação por ano para outras amilases

Os anos de 2007 e 2008 mostraram um aumento significativo nas transações em função da entrada dos EUA como compradores, praticamente dobrando as exportações destes produtos. Pode-se esperar que, com a retomada do crescimento econômico prevista para o futuro, o mercado de amilases continue a crescer e que a demanda não seja fator limitante na análise da planta de produção de glucoamilase proposta.

II.2. Fermentação no estado sólido

II.2.1. Definição

A Fermentação no estado sólido envolve o crescimento de microrganismos sobre uma matriz sólida úmida na ausência de água livre (Raghavarao *et al.*, 2003; Pandey, 2003). O teor de água disponível para utilização do microrganismo se encontra na forma complexada ou absorvida na matriz sólida.

Além de disponibilizar quantidades relativamente baixas de água para utilização do microrganismo, o que restringe as espécies capazes de se adaptarem a esta modalidade de fermentação, a FES coloca o microrganismo em contato direto com a fase gasosa, o que por um lado facilita as trocas gasosas mas por outro, dificulta a dissipação do calor (Pandey, 2003).

No entanto, esta tecnologia possui diversos atrativos para implementação em processos industriais:

- Como a quantidade de água utilizada é relativamente baixa, o produto pode ser obtido em concentrações muito mais elevadas.
- Pela mesma razão, a produção de efluentes líquidos é mínima, o que classifica o processo de FES como amigável ao meio-ambiente.
- A baixa atividade de água também ajuda a prevenir contaminações, possibilitando que alguns processos sejam conduzidos sem necessidade de esterilização.
- Em muitos casos, o produto da fermentação já pode ser diretamente utilizado para a aplicação final, sem necessidade de etapas de recuperação e purificação.
- Baixo consumo de energia.
- Volume relativamente pequeno dos reatores.
- Possibilidade de utilização para aproveitamento de resíduos agrícolas, aplicação tema das pesquisas recentes utilizando esta tecnologia.

Alguns desafios tecnológicos encontrados no emprego de FES são:

- Dificuldade de determinação e controle de parâmetros importantes como pH, temperatura e teor de umidade, que podem variar muito durante o processo e em diferentes pontos do fermentador.
- Os processos de FES normalmente são muito mais demorados que os processos de Fermentação Submersa.
- Dificuldade de quantificação de biomassa, que impede na prática um acompanhamento em tempo real desta importante variável de processos fermentativos.

II.2.2. Breve Histórico e Aplicações da FES

A FES é um processo conhecido e utilizado desde a antiguidade principalmente na produção de artigos alimentícios, como cogumelos e molho de soja. Porém, em meados da década de 40, a FES foi deixada de lado devido ao desenvolvimento da fermentação submersa, principalmente com o desenvolvimento da penicilina (Santos, 2007).

O principal processo de FES realizado durante este período de “esquecimento” foi o de enriquecimento de rações animais (Singhania *et al.*, 2009). Sua característica de agregar valor a materiais de baixo custo, como resíduos agroindustriais, foi o que fez

a FES voltar a ganhar espaço na atualidade, com crescente número de estudos sendo realizados.

Atualmente, a FES pode ser utilizada na produção de diversos itens de interesse industrial, como enzimas, ácidos orgânicos, biopesticidas, pigmentos, entre outros (Soccol e Vandenberghe, 2003). Alguns processos em larga escala já implementados incluem o de produção de ácido cítrico, na Indonésia e Tailândia (Lu *et al.*, 1995), e de fitase, no México (Pandey *et al.*, 2000).

Em especial na produção de enzimas, diversos estudos avaliam a viabilidade de produção por FES de celulasas e xilanases, ligninases, proteases, lípases, pectinases, galactosidases, glutaminases, amilases, entre outras (Pandey *et al.*, 1999).

II.2.3. Parâmetros da FES

Como principais fatores que influenciam o processo de FES podemos citar (Pandey *et al.*, 1999):

- Seleção do microrganismo
- Seleção da matéria-prima
- Condições ambientais (temperatura, pH, umidade)
- Tempo de cultivo
- Homogeneização

II.2.3.1. Seleção do Microrganismo

Diversos microrganismos, incluindo bactérias, leveduras e fungos filamentosos, são capazes de crescer em substratos sólidos. Porém, a seleção de uma linhagem adequada para determinado processo é uma tarefa difícil, especialmente quando se deseja desenvolver um processo economicamente viável e competitivo (Pandey *et al.*, 1999).

Para a produção de enzimas hidrolases, como amilases, xilanases, celulasas, lípases, proteases, etc., os fungos filamentosos são aqueles que apresentam melhor desempenho, já que estas enzimas são essenciais para seu crescimento. Bactérias, como as do gênero *Bacillus*, também podem apresentar vantagens. Por exemplo, o *Bacillus subtilis* é amplamente utilizado para produzir α -amilases devido a sua característica de produzir enzimas termoestáveis.

De forma geral, porém, os fungos filamentosos são os que apresentam melhor crescimento em substratos sólidos na ausência de água livre. Sua estrutura de

crescimento, em hifas, é determinante em seu desenvolvimento nos substratos sólidos (Santos, 2007, Raghavarao *et al.*, 2003).

Suas hifas aéreas realizam as trocas gasosas, enquanto que as hifas penetrativas ficam em contato com o substrato e secretam as enzimas responsáveis pela degradação dos polímeros insolúveis em unidades solúveis que podem ser absorvidas pelas células para crescimento. Isto permite que o microrganismo colonize melhor o substrato sem grandes desvantagens para as trocas gasosas.

A seleção do tipo e tamanho do inóculo também é um fator decisivo no desenvolvimento de um processo de FES. A reprodução dos fungos filamentosos se dá por intermédio dos esporos, que germinam para gerar novas hifas. Normalmente, o inóculo em processos de FES é formado por uma suspensão destes esporos, tendo em vista que a quantificação destes é muito mais simples, permitindo melhor padronização.

Dentre os gêneros de fungos filamentosos utilizados em FES, podemos destacar *Aspergillus* (produção de enzimas, enriquecimento protéico), *Penicillium* (produção de penicilina), *Mucor* (produção de renina), *Rhizopus* (produção de enzimas), entre outros.

O gênero *Aspergillus* é reconhecido na literatura como excelente produtor de enzimas. Por exemplo, o *Aspergillus niger* tem a capacidade de produzir 19 tipos de enzimas de acordo com indução e substrato (Santos, 2007). A produção de glucoamilases por *Aspergillus awamori* também é amplamente reconhecida na literatura (Santos, 2007, Norouzian *et al.*, 2005, Pandey *et al.*, 1999).

II.2.3.2. Seleção da Matéria-prima

A seleção do substrato para um processo de FES depende de diversos fatores, principalmente relacionados a custo e disponibilidade. Resíduos agroindustriais são de forma geral considerados os melhores substratos, inclusive objetivando a produção de enzimas (Pandey *et al.*, 1999).

Num processo de FES, a matéria-prima fornece o substrato e nutrientes necessários ao crescimento e produção do produto de interesse e também age como suporte para as células. De forma a garantir que todos os nutrientes necessários estejam presentes, e que o suporte tenha as características adequadas, é comum adotar-se a suplementação e o pré-tratamento físico ou químico da matéria-prima.

A granulometria da matéria-prima, por exemplo, é de extrema importância. Partículas menores fornecem maior área de contato do microrganismo com os

nutrientes, porém devido à maior compactação podem prejudicar as trocas gasosas e prejudicar o crescimento. Por outro lado, partículas muito grandes facilitam a aeração mas dificultam o ataque microbiano.

II.2.3.3. Condições Ambientais

A temperatura de condução do processo é um fator determinante no processo de FES. Não só afeta o crescimento e desenvolvimento do microrganismo, como também a gama de produtos celulares secretados (Pandey *et al.*, 1999, Durand, 2003).

Outro fator relacionado à temperatura é a dissipação de calor da região onde ocorre a fermentação para o ambiente. Uma pobre transferência de calor, comum devido à baixa condutividade térmica do ar, pode levar a aumentos significativos da temperatura, prejudicando o processo.

Como a água disponível para o microrganismo se encontra na forma complexada ou absorvida na matriz, a quantidade de água presente na matriz deve ser cuidadosamente avaliada e, se necessário, o teor de umidade corrigido.

A umidade ambiente também deve ser mantida num nível adequado, de forma a evitar a perda de água pela matriz sólida e manter o nível de água adequado.

O pH pode ser outro fator determinante. Apesar de sua determinação e controle serem difíceis, sabe-se que ele varia amplamente ao longo do processo fermentativo e que pode influenciar fortemente no conjunto de produtos secretados pela célula.

II.2.3.4. Tempo de Cultivo

Durante o processo fermentativo, há uma variação grande no metabolismo do microrganismo, ocasionada pelos diferentes estágios de crescimento que este experimenta e às variações nos parâmetros do processo, como temperatura, concentração de substrato e nutrientes, pH, entre outros (Pandey *et al.*, 1999).

Desta forma, é de se esperar que os produtos secretados variem de acordo com o tempo de cultivo, tornando necessário estabelecer previamente o tempo adequado de cultivo para cada produto.

Além disso, no desenvolvimento de um processo competitivo a produtividade é essencial: deve-se determinar experimentalmente o tempo de cultivo que fornece não só os produtos adequados, como com produtividade alta.

II.2.3.5. Homogeneização

A homogeneização permite que uma parte maior da matéria-prima fique disponível para o microrganismo, além de facilitar as trocas gasosas e a dissipação de calor. No entanto, a homogeneização pode trazer problemas, pois pode romper as hifas dos fungos filamentosos, prejudicando seu crescimento. A homogeneização também pode encarecer o processo pelo aumento do consumo de energia (Durand, 2003).

II.2.4. Aumento de Escala

À medida que cresce o interesse na FES, aumenta também o número de artigos publicados sobre o assunto. Nota-se, no entanto, que a maioria dos estudos realizados tem um enfoque laboratorial, no estudo da influência de diferentes fatores sobre o metabolismo do microrganismo e os produtos gerados, mas que problemas de engenharia e aumento de escala, que surgem quando se tem em mente uma aplicação industrial, são pouco tratados na literatura (Durand, 2003).

As tecnologias desenvolvidas para FES se baseiam em regime de batelada, dado que as dificuldades de transferência de material e homogeneização, somados ao alto tempo de fermentação e as outras dificuldades citadas, impedem que se vislumbre FES a possibilidade de aplicação de regimes em contínuo ou semi-contínuo em escala industrial.

O aumento de escala ainda é um gargalo para a utilização de FES em processos industriais. Quando se atinge uma escala industrial, diversas características de processo devem ser consideradas: dificuldades de dissipação de calor, compactação do meio sólido, propriedades do microrganismo quanto à resistência a agitação mecânica e demanda de oxigênio, necessidade de pré-tratamento da matéria-prima, intensidade de mão-de-obra necessária e manuseio (Brand, 2006).

Em especial, a dissipação de calor pode se tornar um problema sério. Acima de quantidades críticas de matéria-prima, o meio sólido se torna compactado ou cria caminhos preferenciais de ar. Estes fatores prejudicam a transferência de calor e massa, em decorrência da aeração ineficiente. Duas estratégias existem para contornar esse problema:

- Circulação de ar em torno da camada de matéria-prima;

- Circulação de ar através da camada de matéria-prima (aeração forçada). Nesta estratégia, pode ser utilizada ou não agitação mecânica, contínua ou intermitente.

Dentro da primeira estratégia, reatores de bandeja são extensivamente aplicados na indústria, principalmente nos países asiáticos, e apresentam menos inconvenientes para o aumento de escala. São normalmente localizados em câmaras e necessitam de área maior, dificultando a manutenção de um ambiente estéril, e são intensivos em mão-de-obra.

Reatores de aeração forçada sem agitação normalmente tem o formato de peneiras que suportam a matéria-prima e pelas quais o ar é forçado. Nestes reatores, os gradientes de temperatura entre o fundo e o topo são inevitáveis, visto que o calor é dissipado por evaporação e convecção. O meio sólido acaba secando devido a esta evaporação, e adição de água se torna necessária para manter o teor de umidade apropriado.

Algumas alternativas, como utilização de vários módulos com trocadores de calor individuais, foram propostas na literatura, porém o aumento de escala destes é complexo e a intensidade de mão-de-obra grande, devido às operações de limpeza.

Reatores de mistura contínua com aeração forçada são de forma geral variações do tambor rotatório. Originalmente, foram concebidos com a intenção de aumentar a área de contato entre a matéria-prima e o microrganismo, mas apresentam desvantagens tais como aglomeração do material, dificuldade de regulação da temperatura e baixa transferência de oxigênio, visto que a quantidade de matéria-prima utilizada é maior.

Reatores de mistura intermitente podem ser descritos como leitos compactados com ar circulando através do leito, e com um dispositivo de agitação acionado periodicamente. Seu desenho, porém, depende fortemente nas condições de esterilidade demandadas pelo processo. Para processos não estéreis, existem opções mais tradicionais largamente utilizadas na Ásia e avanços recentes, como o de Duran e Chereau 1988, que foi estudado posteriormente por Xue *et al*, 1992 com aumento de escala para uma capacidade de 50t.

Normalmente, os processos de FES não são conduzidos de forma estéril. Há sim a esterilização do meio antes da alimentação no processo, sendo o ambiente de reação não necessariamente estéril. Para processos que necessitam ser conduzidos em condição estéril, não há na literatura indicação de reatores utilizados em escala industrial. Esses processos são normalmente de dois tipos:

- Processos nos quais o produto final necessita ser estéril, por questões de legislação ou por conta da aplicação final;
- Processos nos quais o microrganismo tem crescimento muito lento. De forma geral, processos que durem mais de três dias são difíceis de serem conduzidos sem condições estéreis.

II.3. Babaçu

Segundo Teixeira (2002), o babaçu (*Orbignya phalerata*) é uma palmeira brasileira de grande porte (até 20 m), de tronco cilíndrico e copa em formato de taça. O babaçu possui de 15 a 25 frutos por cacho, sendo estes em número de 4 (habitat natural). Os frutos (chamados de cocos) são em formato elipsoidal, mais ou menos cilíndricos, pesando de 90 a 280 g. Este fruto apresenta: epicarpo (camada mais externa e bastante rija), mesocarpo (com 0,5 a 1,0 cm e rico em amido), endocarpo (rijo, de 2 a 3 cm) e amêndoas (de 3 a 4 por fruto, com 2,5 a 6 cm de comprimento e 1 a 2 cm de largura). Sua aparência pode ser observada na Figura 4 (fonte: <http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/babacu/babacu-7.php>) a seguir.



Figura 4 - Um cacho de frutos de babaçu

A exploração extrativista do babaçu é uma atividade secular no território brasileiro (realizada por populações silvícolas desde antes do século XVI), e os produtos produzidos a partir desta exploração são diversos: a página da *internet* da ONG Rede de Tecnologia Social (www.rts.org.br) cita o uso das folhas para se fazer telhado para as

casas e artesanato; do caule para produção de adubo e estrutura de construções; da casca do fruto para produção de carvão para alimentar as caldeiras da indústria; do mesocarpo para produção de farinha usada na nutrição infantil; e da amêndoa para obter-se o óleo, empregado na alimentação e na produção de combustível, lubrificante e até mesmo sabão.

O impacto social da atividade extrativa associada ao babaçu e às cadeias produtivas ligadas a este é grande: Teixeira cita o emprego de 2 milhões de pessoas nestas atividades e a página da internet da ONG Rede de Tecnologia social cita que ao menos 400 mil mulheres estão empregadas no trabalho manual de quebrar a casca do fruto (sendo conhecidas como quebradeiras de coco).

A torta do babaçu (de fato, a torta da amêndoa do babaçu) é um subproduto do processo de extração mecânica do óleo da amêndoa de babaçu. A fração de torta gerada por amêndoa é, segundo DESER (2007), de 34%. Consulta feita a fornecedores de torta de babaçu colocam o preço de R\$ 0,66/kg como comumente praticado na agroindústria.

A composição da torta de babaçu é apresentada na Tabela 1 abaixo (Gutarra, 2007), notando-se a apreciável concentração de carboidratos neste rejeito agroindustrial e seu alto teor protéico. A torta de babaçu é usualmente utilizada na composição de rações animais de forma empírica, devido ao baixo custo e à disponibilidade durante períodos de estiagem (Silva *et al.*, 2008).

Tabela 1- Composição da torta de babaçu

Composição	Concentração (%)
Umidade	6,6
Proteínas	22,8
Carboidratos	61,8
Lipídeos	4,5
Cinzas	4,3

Para que se pudesse construir um cenário de oferta da torta de amêndoa de babaçu, foram analisados dados do Sistema IBGE de Recuperação Automática (Sidra) a respeito da amêndoa de babaçu.

Como se pode averiguar pela Tabela 2 a seguir (produzida a partir de dados do Sidra, consultado em 2010), o Maranhão desponta como principal estado produtor de amêndoa de babaçu, produzindo (desde 1998) mais de dez vezes a soma da produção de todos os outros estados. Pode-se notar também uma tendência geral de declínio na

produção de amêndoa de babaçu de 2005 a 2008, sendo a diferença da produção destes anos acima de 7.000 toneladas/ano.

Tabela 2 - Produção de amêndoas de babaçu (toneladas) por Estado

		Ano									
		1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Estado	Amazonas	1	1	1	1	1	11	11	11	12	12
	Pará	19	19	17	17	17	17	23	24	27	30
	Tocantins	2104	1953	1806	1835	1982	2113	967	846	356	345
	Maranhão	110877	108043	106016	105357	104466	109982	111730	110418	108745	104479
	Piauí	5825	6013	5883	5908	6179	5849	5562	5158	5032	5070
	Ceará	410	416	425	419	360	387	368	354	358	359
	Bahia	427	443	414	399	391	366	369	339	345	341
	Minas Gerais	1	-	-	-	-	-	-	-	0	0
Total		119664	116888	114562	113936	113396	118725	119030	117150	114875	110636

Dentro do Estado do Maranhão, ocorre interessante dinâmica (que pode ser averiguada na Tabela 3 a seguir) na última década de diminuição de produção em regiões como o Leste e o Norte Maranhense e aumento acentuado na região do Centro Maranhense. Assim, a região do Centro Maranhense desponta como grande produtora de amêndoa de babaçu e, portanto, de sua torta. Ainda, esta região localiza-se a uma distância não impeditiva do Porto de Itaqui, em São Luís (MA), e este terminal hidroviário poderia ser cogitado como via para exportação do produto (para, por exemplo, os EUA) ou para o transporte pelo litoral brasileiro.

Tabela 3 - Produção de amêndoas de babaçu (toneladas) por mesorregião maranhense

		Ano									
		1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Mesorregião maranhense	Norte	25427	25323	25233	24858	24873	23797	23778	23493	22829	21474
	Oeste	15515	15192	15015	15180	14630	15463	15798	15395	14280	13374
	Centro	35419	34750	34769	35264	36162	42506	44606	43913	44182	44785
	Leste	34416	32670	30905	29959	28712	28109	27474	27549	27355	24756
	Sul	101	108	93	96	90	107	73	67	100	90
Total		110878	108043	106015	105357	104467	109982	111729	110417	108746	104479

II.4. Avaliação Econômica de Processos

A viabilidade técnica de um determinado processo produtivo é condição necessária mas não suficiente para a implantação do mesmo. Ao domínio das técnicas produtivas deve estar aliada uma série de condições materiais (como existência e

disponibilidade dos recursos materiais necessários no processo), sociais (como a existência de uma força de trabalho adequada) e econômicas (que remetem à capacidade de gerar lucro no processo, recompensando os investidores em um determinado prazo).

Avaliar um processo economicamente consiste em estimar o investimento e os custos operacionais envolvidos no processo produtivo, estimar a renda obtida com a venda do(s) produto(s) do processo e avaliar os indicadores de atratividade de investimento baseando-se no fluxo de caixa previsto para o empreendimento.

Este procedimento pode ser feito com diferentes propósitos em diferentes estágios do desenvolvimento de um empreendimento. Quanto maior a necessidade de precisão na estimativa do fluxo de caixa, maior deve ser o detalhamento do projeto. Segundo Peters e Timmerhaus (1991) pode-se dividir os projetos em 3 tipos, de acordo com o nível de detalhamento e precisão obtida:

- Projeto preliminar
- Estimativa de projeto detalhado
- Projeto detalhado.

II.4.1. Custos de Operação

Independentemente do tipo de projeto em estudo, é necessário estimar custos de diversas naturezas. Como indicado por Chauvel *et al.* (2003), os custos de operação em um processo podem ser classificados em três categorias:

- *Custos variáveis*: diretamente proporcionais à produção da planta existente, e não à capacidade instalada de produção. Se encaixam nesta categoria custos das matérias-primas e utilidades, bem como os custos que surgem devido à produção de sub-produtos pouco atraentes para o mercado.
- *Custos fixos*: proporcionais à capacidade instalada da planta, mas independentes da produção em si. Encaixam-se nesta categoria os custos de manutenção, seguro das instalações, custos administrativos e depreciação dos equipamentos.
- *Mão-de-obra*: Apesar de parecer razoável pensar na mão-de-obra como um custo variável e diretamente proporcional ao nível produtivo, esta hipótese não se sustenta; uma eventual parada emergencial da planta

levaria os custos variáveis a cessarem, mas custos de mão-de-obra se manteriam inalterados.

Na Figura 5 abaixo observa-se uma distribuição típica de custos em uma planta industrial (adaptado de Peters e Timmerhaus, 1991).

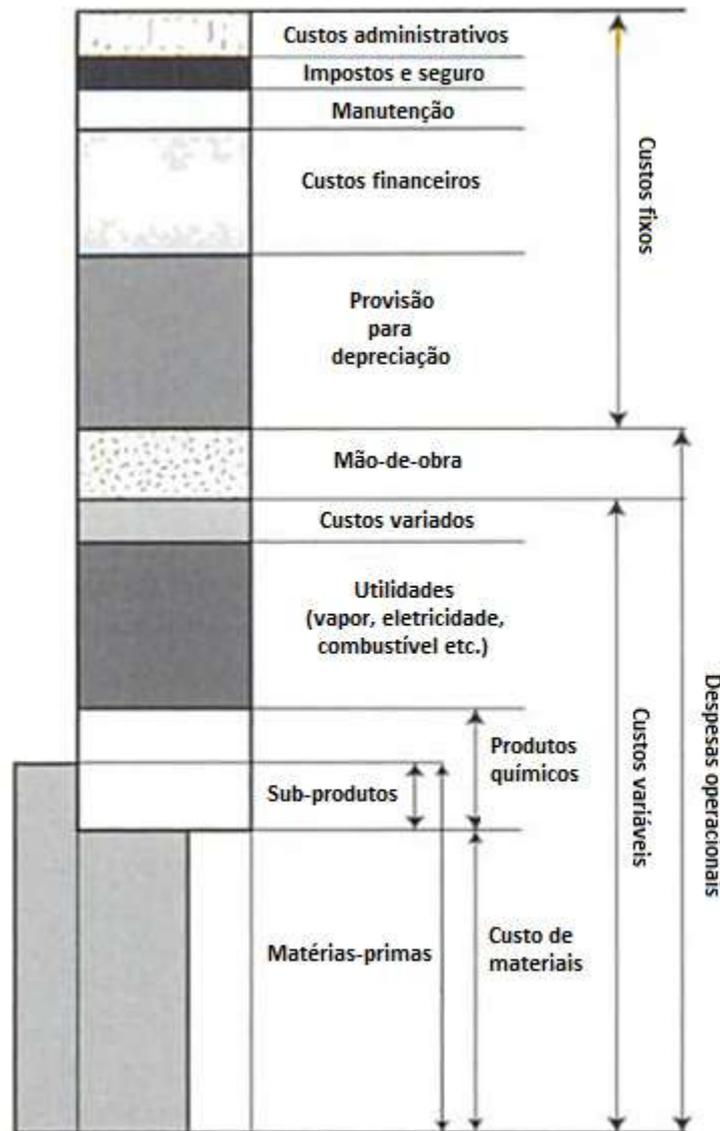


Figura 5 – Distribuição de custos em uma planta industrial

II.4.2. Investimento

Por sua vez, os investimentos a serem feitos na planta são classificados em diferentes tipos de acordo com sua natureza. Chauvel *et al.* (2003), sugerem a seguinte classificação:

- Investimentos nas unidades produtivas (*inside battery limits - ISBL*) – refere-se estritamente aos investimentos feitos nos componentes

produtivos do complexo manufatureiro, como máquinas e equipamentos de processo e as fundações e estruturas necessários para o seu funcionamento.

- Investimentos em serviços gerais e armazenamento (*outside battery limits – OSBL*) – refere-se às diversas instalações e equipamentos que contribuem indiretamente para o processo produtivo. Nesta classificação podem ser encontradas unidades de geração de utilidades, tratamento de efluentes e tancagem.
- Capital fixo – refere-se ao investimento em unidades (ISBL e OSBL) e aos custos de engenharia, peças de reposição e os honorários da empreiteira.
- Capital depreciável – refere-se ao capital fixo acrescido dos custos de partida, das cargas iniciais e dos juros advindos do empréstimo para a construção.
- Capital de giro – refere-se ao investimento temporário ligado à operação da planta industrial que, diferentemente dos outros, não sofre depreciação e pode ser vendido após um período de tempo sem perda financeira (desconsiderando possível desvalorização monetária ou mudança no valor dos itens a serem vendidos). Nesta classificação são encontrados o estoque de matéria-prima e produtos químicos.

Na Figura 6 a seguir observa-se uma distribuição típica dos investimentos em uma planta industrial (adaptado de Peters e Timmerhaus, 1991).

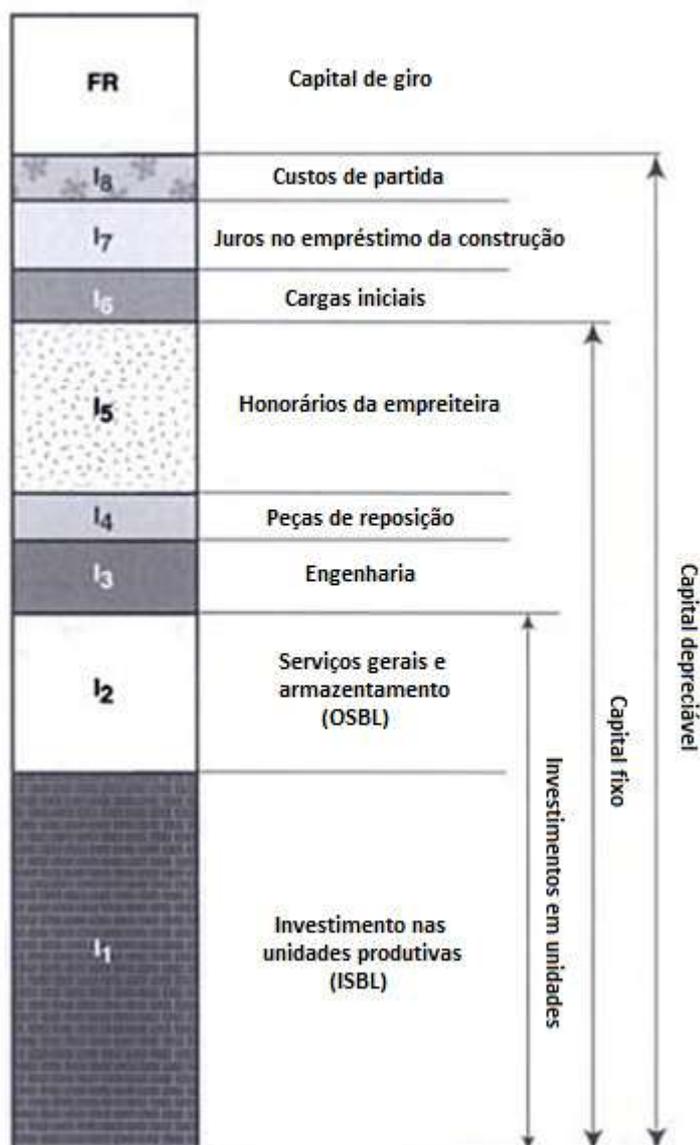


Figura 6 – Distribuição de investimentos em uma planta industrial

Estimativas do capital necessário para os investimentos podem variar em relação ao nível de detalhamento necessário e oferecem diferentes precisões. Peters e Timmerhaus (1991) sugerem a seguinte classificação:

- Estimativa de ordem de magnitude, baseada em dados de custo anteriores; com erro provavelmente maior que $\pm 30\%$
- Estimativa de estudo, baseado no conhecimento dos principais custos de equipamentos; com erro provavelmente até $\pm 30\%$
- Estimativa preliminar, baseado em dados suficientes para que se possa fazer um orçamento; com erro provavelmente dentro de $\pm 20\%$

- Estimativa definitiva, baseado em dados quase completos mas antes das especificações e dos desenhos dos equipamentos; com erro provavelmente dentro de $\pm 10\%$
- Estimativa detalhada, baseada em desenhos completos de engenharia e especificações; com erro provavelmente dentro de $\pm 5\%$.

II.4.3. Custos de Equipamentos

Em estudos não detalhados de investimentos, é possível estimar o custo de um equipamento de determinada capacidade conhecendo o custo e a capacidade de um equipamento similar através da aplicação de uma equação de ajuste de capacidade (Equação 1):

$$C_2 = C_1 * \left(\frac{Q_2}{Q_1}\right)^f$$

Equação 1

Na equação acima, C se refere ao custo, Q à capacidade, o sub-índice 1 se refere ao equipamento conhecido e 2 se refere ao equipamento a ser determinado. O fator f é um fator que pode ser ajustado para um determinado tipo de equipamento de uma determinada indústria, baseando-se em dados de plantas existentes. É possível encontrar para f valores em uma ampla faixa: normalmente, se encontra entre 0,2 e 1, mas podem ser encontrados valores fora desta faixa. Quando este fator é desconhecido, utiliza-se o valor médio de 0.6 como estimativa – por esta razão esta regra de escalonamento é conhecida como “regra dos seis décimos”.

Freqüentemente, durante uma estimativa de investimento, torna-se necessário ajustar preços praticados no passado para o presente, principalmente em função da variação de preços de materiais e custo do trabalho associado à instalação do equipamento. Para tal, o uso de índices de custo é feito através do uso de índices de preço (Equação 2):

$$C_2 = C_1 * \left(\frac{I_2}{I_1}\right)$$

Equação 2

Na equação acima, C se refere ao custo, I ao valor do índice, 1 ao primeiro momento considerado e 2 ao segundo momento considerado. Diversas entidades publicam índices regularmente (usualmente anualmente) e estes podem se referir a diferentes indústrias, tipos de equipamentos ou itens de custo. No entanto, nenhum

índice é capaz de levar em conta todos os fatores possíveis (como evolução tecnológica ou condições locais). Índices importantes no contexto são o *Marshall and Swift all industry index* e o *Chemical Engineering cost index*.

II.4.4. Indicadores de Lucratividade

Para avaliar economicamente um determinado processo ou projeto é necessário utilizar parâmetros de lucratividade ou atratividade financeira. Diversos indicadores prestam-se a este papel, dentre os quais se ressaltam:

- Margem bruta de lucro: é definida como a relação entre o lucro (renda total subtraído do custo de produção) e a renda obtida com a venda de produtos.
- Retorno sobre investimento (return on investment – ROI): é definido como a relação entre lucro obtido e o capital investido.
- O tempo de retorno de investimento (payback time ou payback period): é o tempo necessário para que o lucro líquido acumulado (soma dos lucros líquidos no tempo) se iguale ao investimento inicial. Não considera, em sua definição, os efeitos dos juros ou a distribuição dos lucros líquidos no tempo.
- Valor presente líquido (Net Present Value – NPV): é definido pela Equação 3:

$$NPV = \sum_{t=0}^{t_f} \frac{CF_t}{(1+r)^t}$$

Equação 3

ou seja, o NPV é a soma dos valores presentes dos fluxos de caixa anuais (Cash Flow nos tempos t) descontados de uma taxa de juros (r) denominada custo de capital até o período de fim de vida do empreendimento (t_f). O custo de capital é definido como a taxa média de retorno esperada em um investimento.

- Taxa interna de retorno (Internal Return Rate – IRR): é definida como a taxa que, utilizada na equação do NPV em substituição ao custo de capital, torna o NPV nulo no final de tempo de vida do empreendimento. A IRR deve ser comparada com uma taxa de atratividade mínima para que se possa avaliar quão interessante é investir no empreendimento.

II.5. Engenharia de Processos

De acordo com Perlingeiro (2005), o problema que constitui a determinação de um projeto ótimo, partindo do desejo de se produzir um determinado produto com melhor desempenho econômico possível, pode ser decomposto em três subproblemas:

- Tecnológico, que trata da rota a ser utilizada, ou seja, quais matérias-primas serão convertidas no produto desejado;
- Estrutural, que trata da síntese de diagramas que representem seqüências ou arranjos de operações e as correntes que percorrem este sistema;
- Paramétrico, que trata da análise individual dos fluxogramas em função em características dos equipamentos ou de condições de processos (temperaturas, dimensões de equipamentos etc.) com vistas a uma função objetivo (custo ou lucro).

É importante notar a existência de uma hierarquia lógica nestes subproblemas: o problema estrutural somente pode ser resolvido (com a construção de diagramas de blocos) uma vez que o subproblema tecnológico tenha sido resolvido, ou seja, uma vez que a rota tecnológica tenha sido determinada.

De forma análoga, somente é possível resolver o subproblema paramétrico, ou seja, analisar um fluxograma em relação aos parâmetros das operações unitárias, uma vez que o subproblema estrutural tenha sido resolvido (diagrama de blocos).

Lógicas de resolução para o problema de projeto ótimo usualmente exploram o universo de possíveis soluções discretas que é composto pelos subproblemas tecnológico e estrutural e procuram resolver o subproblema paramétrico para os diagramas de blocos gerados.

Diversas são as formas de gerar os diagramas de blocos a serem avaliados. Para algumas situações, todos os diagramas possíveis são gerados e avaliados, mas, devido à natureza inerentemente combinatória do problema, em diversos casos esta solução de busca exaustiva demandaria demasiado esforço computacional. Nestes casos, são aplicados algoritmos de busca de ótimos que restringem a busca e possibilitam a obtenção de soluções para o problema de projetos (não garantindo, no entanto, que a solução ótima tenha sido de fato alcançada).

A avaliação dos fluxogramas gerados (e também sua otimização) geralmente gera problemas de grande complexidade e que demandam grande esforço computacional. Na prática, esta tarefa é simplificada e potencializada através do uso de

softwares que se dedicam à simulação de processos e permitem o armazenamento confiável de grandes quantidades de dados, incluindo dados de componentes, equipamentos etc., e possuem freqüentemente modelos para as operações unitárias, modelos termodinâmicos e ainda seções de avaliação econômica.

Simuladores de processos químicos tornaram-se amplamente difundidos entre os engenheiros que se envolvem nas atividades de projeto de plantas químicas e incluem muitas das operações unitárias que se podem desejar quando projetando um processo com natureza estritamente física e química, além de resolver balanços de massa e energia. No entanto, quando se deseja incluir etapas microbiológicas e/ou enzimáticas, freqüentemente não se pode fazer uso dos simuladores utilizados na indústria química, simplesmente pela ausência das operações unitárias desejadas e dos modelos relativos a estas operações.

Simuladores para processos envolvendo bioprocessos são pouco difundidos no mercado, e ainda possuem uma diversidade de limitações; entre estas, a que aparece com maior destaque é a ausência de modelos gerais consolidados para determinadas operações (como a própria FES) e a necessidade de experimentos para determinar as características particulares da operação que se deseja reproduzir no software.

II.5.1. SuperPro Designer

O software SuperPro Designer é um simulador de processos produzido pela empresa Intelligen, Inc. Segundo Demetri Petrides *et al.* (2009), na época em que sua primeira versão foi produzida, em meados da década de 1990, seu foco primário era em bioprocessos. No entanto, seu escopo se expandiu com o passar do tempo e atualmente inclui operações das indústrias farmacêutica, de alimentos, de química fina, de processamento de minérios e outros.

Características importantes do simulador são:

- A presença de mais de 140 operações unitárias, incluindo operações normalmente não encontradas em simuladores de processos químicos, como fermentadores, digestores, cromatografias, diferentes tipos de secadores e equipamentos para formulação de produtos
- A capacidade de simular operações de plantas em batelada ou com somente partes da planta em batelada, dado que diversas operações unitárias em bioprocessos se dão desta forma.

- A capacidade de conjugar a operação de uma unidade a outra, de maneira que se possa planejar e visualizar a operação da planta de acordo com gráficos de Gantt.
- A ferramenta embutida de análise econômica da planta, bem como modelos de custo para os equipamentos encontrados no simulador.

A capacidade de conjugar operações e organizá-las permite que seja feita detecção e remoção de gargalos da planta, de forma a tentar aproximar-se do uso mais racional dos recursos.

As capacidades relacionadas à análise econômica de processos tornam a ferramenta bastante interessante para aqueles que desejam avaliar tecnologias novas na área de bioprocessos em relação a sua viabilidade econômica – e esta é uma tarefa de suma importância, dada a necessidade de demonstrar a viabilidade econômica para transformar diversos processos atualmente desenvolvidos em laboratório e escala piloto em processos industriais.

Capítulo III. Objetivos

Com os objetivos de contribuir para o aproveitamento da torta da amêndoa de babaçu gerada no processo de extração do óleo da amêndoa do babaçu, evitando seu eventual despejo inadequado no meio ambiente e de contribuir para a geração de glucoamilases de baixo custo com diversas aplicações, inclusive a aplicação em processos de produção de etanol, este trabalho pretende contribuir para o desenvolvimento de um processo industrial de geração de enzimas a partir da FES por *Aspergillus awamori* e avaliar sua viabilidade do ponto de vista econômico.

Para tanto, este trabalho pretende: avaliar em escala de bancada parâmetros do processo que permitam seu entendimento visando o balanço material de uma planta de escala industrial, propor um fluxograma do processo em batelada que represente o funcionamento de uma planta hipotética do processo visando um aproveitamento de uma fração determinada da torta de babaçu produzida em uma determinada região, dimensionar equipamentos da planta e fluxos materiais necessários para o seu funcionamento e estimar custos de investimento e custos operacionais relativos ao processo e as receitas advindas da venda de produto e sub-produto do processo, derivando destas estimações uma avaliação quanto à viabilidade econômica do processo.

Finalmente, por meio destes objetivos específicos, o presente trabalho pretende contribuir para o desenvolvimento da indústria de bioprocessos em geral e especificamente para o desenvolvimento nacional de tecnologias limpas e ambientalmente amigáveis de geração de produtos de interesse estratégico do Brasil, bem como auxiliar na geração e distribuição de renda a partir da agroindústria.

Capítulo IV. Materiais e Métodos

Para a simulação de uma planta de produção de glucoamilases por FES, se faz necessária a determinação de alguns parâmetros que são característicos deste processo e que não se encontram disponíveis na literatura.

A maioria destes parâmetros está relacionada diretamente com a fermentação e os produtos gerados, e são tais como a quantidade de biomassa, a atividade enzimática obtida, o tempo de processo, entre outros.

Após a determinação dos parâmetros do processo, foi realizada uma busca pelos parâmetros econômicos necessários, como preços dos insumos, preço de venda do produto final e de subprodutos, equipamentos e etc.

Finalmente, de posse de todos os dados necessários, a síntese do processo e a avaliação econômica puderam ser realizadas.

A Figura 7 a seguir é um esquema da estrutura da metodologia empregada neste trabalho.

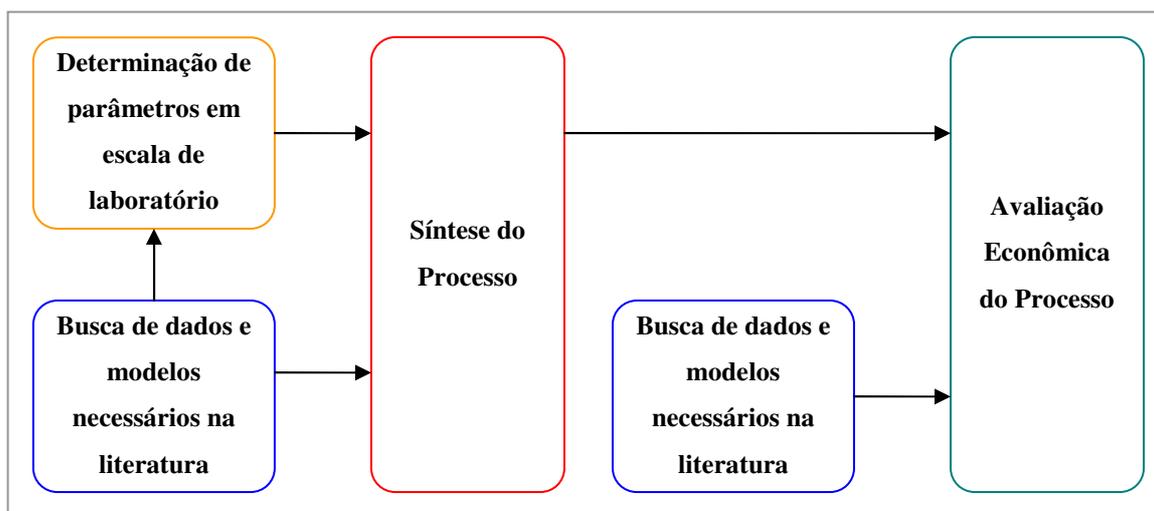


Figura 7 – Metodologia do Trabalho

IV.1. Parte Experimental

IV.1.1. Matéria Prima

A matéria-prima escolhida para este trabalho foi a torta de babaçu obtida da empresa Tocantins Babaçu S.A. Para manter a viabilidade econômica do processo, optamos por não utilizar nenhum tipo de suplementação e apenas a moagem como forma de pré-tratamento físico.

IV.1.2. Moagem

A moagem da torta de babaçu bruta foi realizada em um moinho de facas, com uma passagem. Esta etapa foi realizada com o objetivo de diminuir o tamanho máximo das partículas de babaçu, levando a matéria-prima a uma distribuição de tamanhos adequada para a realização do processo fermentativo.

IV.1.3. Análise granulométrica

A determinação da distribuição granulométrica da torta de babaçu moída foi realizada utilizando-se um conjunto de peneiras de aberturas 0,105, 0,21, 0,297, 0,42, 0,595, 0,841, 1,19, 1,68, 2 e 2,38mm.

Esta etapa foi realizada para garantir que a torta não se encontrava em uma condição de tamanhos muito pequenos ou muito grandes, visto que uma distribuição predominantemente em um destes extremos poderia trazer problemas para o processo conforme discutido anteriormente.

Antes de ser utilizada na fermentação, a torta foi esterilizada em autoclave a 1atm por 20 minutos.

IV.1.4. Determinação do Teor de Umidade

Amostras de 4g de torta bruta foram colocadas em placas de Petri em estufa a 100°C. Seu peso total foi medido inicialmente a intervalos de 1h e posteriormente a intervalos de 20 minutos.

A umidade total foi determinada por diferença entre o peso inicial e o peso seco após estabilização.

IV.1.5. Microrganismo

O microrganismo utilizado foi o *Aspergillus awamori* cepa 3914 do banco de microrganismo do Instituto Osvaldo Cruz.

A conservação foi realizada em tubos de rosca contendo meio amido (Tabela 4) com gelose inclinada, em freezer a -10°C. Repiques foram realizados a cada 3 meses para garantir a viabilidade das culturas.

IV.1.5.1. Meio amido

O *A. awamori* foi mantido e propagado em meio com composição conforme a Tabela 4 abaixo (adaptado de Ruegger e Tauk-Tornisielo, 2004):

Tabela 4 – Composição do Meio Amido

Componente	Concentração (g/L)
Amido	10,0
NaNO ₃	3,0
K ₂ HPO ₄	1,0
MgSO ₄	0,5
KCl	0,5
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,001
Agar-agar	20,0

O meio foi esterilizado em autoclave a 1atm por 20 minutos.

IV.1.6. Preparo do Inóculo

Para a propagação do microrganismo, foram realizados repiques para placas de Petri contendo meio amido (Tabela 4) que foram mantidas em estufa a 30°C com alimentação de ar saturado por 1 semana.

Os esporos de um número adequado de placas de Petri foram ressuspensos em água destilada estéril e foi realizada a contagem de esporos de uma alíquota em câmara de Neubauer (Inlab).

IV.1.6.1. Determinação da geração de esporos

Esta etapa foi realizada com o objetivo de determinar a geração de esporos pelo processo de propagação para que o balanço de massa pudesse ser realizado para a simulação do processo.

Foram inoculados 0,5mL de uma suspensão contendo $5,00 \times 10^{10}$ esporos/L em placas de Petri contendo 20mL de meio amido. Após o crescimento por 1 semana conforme as condições descritas acima, os esporos foram ressuspensos com 16mL de água destilada estéril por placa, e a contagem de esporos de uma alíquota foi realizada em câmara de Neubauer.

IV.1.7. Fermentação

A fermentação foi realizada em becheres plásticos de 50mL, contendo 2,5g de torta de babaçu estéril e suspensão de esporos suficiente para completar 10^7 esporos por grama de torta. A umidade foi então corrigida para 70% com água destilada estéril.

Os becheres foram mantidos em estufa a 30°C com alimentação de ar saturado por 0, 24, 48, 72 e 96h, sendo cada experimento realizado em triplicata.

Esta metodologia foi determinada em laboratório.

IV.1.8. Extração

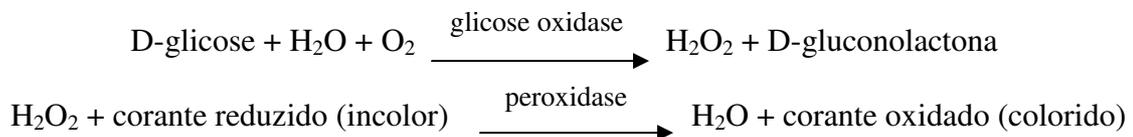
Foram adicionados 25mL de água destilada em cada becher. Em seguida, fez-se uma maceração com bastão de vidro e o conteúdo dos três becheres foi transferido para um Erlenmeyer e submetido a 220rpm de agitação a 37°C por 30 minutos em shaker (Environmental incubator shaker, New Brunswick Scientific co., inc.).

O extrato foi então centrifugado a 10000rpm e 15°C por 20 minutos (Sorvall Legend RT Centrifuge, Thermo Electron Corporation) e o sobrenadante mantido a 4°C até a realização das análises.

IV.1.9. Determinação da Atividade Glucoamilásica

A determinação da atividade exoamilásica foi realizada através da medida da glicose liberada após reação de solução de amido com o extrato enzimático, pelo método enzimático de GOD-POD.

O método de GOD-POD é um método analítico enzimático onde as enzimas glicose oxidase e peroxidase agem segundo as reações abaixo (Coelho *et al.*, 2008):



A geração de cor é proporcional à concentração de corante oxidado, e sua absorvância pode ser medida a 505nm.

IV.1.9.1. Solução tampão universal

A solução tampão universal consiste de um tampão 120mM de pH 5, obtido através da mistura de duas soluções (Britton e Robinson, 1931):

- Solução A (ácida): 40mM dos ácidos fosfórico, acético e bórico.
- Solução B (alcalina): 200mM de NaOH

Foram utilizados 25,8mL de solução B para um volume total de 100mL completados com solução A. Quando necessário, o pH foi corrigido com solução de NaOH 0,1N ou HCl 0,1N.

IV.1.9.2. Determinação de glicose

Foram incubados 10µL de extrato com 90µL de uma solução padrão de amido 10g/L em tampão universal, por 15 minutos a 40°C. Após o tempo de reação, os tubos foram incubados por 5 minutos a 100°C para inativar as enzimas. Foi então adicionado 1mL de reativo enzimático GOD-POD e em seguida os tubos foram incubados por mais 10 minutos a 40°C. Por fim, foi realizada a leitura da absorvância a 505nm.

Cada análise foi realizada em triplicata, e os brancos foram realizados utilizando-se água no lugar de extrato enzimático, para determinar a quantidade de glicose presente inicialmente em cada ponto. Metodologia adaptada de Riaz *et al.*, 2007.

A curva padrão da análise foi gerada utilizando-se como padrão soluções de concentração conhecida de glicose em tampão universal.

IV.1.9.3. Cálculo da atividade

Após determinada a quantidade de glicose gerada pela reação enzimática, por diferença entre a média dos pontos e o branco, a atividade foi determinada conforme a Equação 4 abaixo:

$$\text{Atividade (U/g}_{MP}) = \frac{\text{no de } \mu\text{mols de glicose}}{15 \text{ min}(\text{tempo de reação})} \times \frac{30,83\text{mL}(\text{volume de extrato})}{0,01\text{mL}(\text{extrato usado na análise}) \times 2,5\text{g}(\text{massa matéria - prima})}$$

Equação 4

Onde uma unidade de atividade é definida como a quantidade ativa necessária para produzir 1µmol de glicose em 15 minutos a 40°C, para uma solução padrão de amido de 10g/L e pH 5.

IV.1.10. Determinação do Teor de Proteínas

Para determinar a atividade por quantidade de proteína, necessária para a simulação do processo, foi realizada a dosagem de proteínas no extrato através do método de Bradford (1976).

O conteúdo protéico extracelular total dos extratos enzimáticos foi determinado incubando-se 800µL de amostra com 200µL de reagente Bio Rad (à base do corante *Coomassie blue* G-250) por 5 minutos a temperatura ambiente. Após o tempo reacional, adicionou-se 1mL de água destilada e a absorvância das soluções foi

determinada a 595 nm. O branco reacional continha 800µL de água, ao invés de amostra. Cada análise foi realizada em triplicata.

A curva padrão que correlaciona valores de absorvância ao conteúdo protéico de soluções foi obtida utilizando-se albumina bovina sérica como padrão em concentrações na faixa de 5 a 50mg.L⁻¹. Os pontos da curva padrão foram submetidos às mesmas etapas que as amostras dos extratos enzimáticos, para sua quantificação.

O teor protéico por massa de matéria-prima foi calculado pela Equação 5 abaixo:

$$\text{Teor protéico (mg}_{\text{proteínas}}/\text{g}_{\text{MP inicial}}) = \frac{[\text{Proteínas}]_{\text{extrato}} (\text{mg/mL}) * 30,83 \text{ mL}}{0,8 * 2,5 \text{ g}_{\text{MP inicial}}}$$

Equação 5

Na qual o fator 0,8 indica o fator de diluição da amostra.

IV.2. Síntese do Processo

O fluxograma foi desenhado com base nas operações previstas pelo trabalho experimental e em consulta à literatura (Zhuang 2006, Ramírez *et al.*, 2009, Perkis *et al.*, 2008, Kwiatkowski *et al.*, 2006).

IV.2.1. Operações e Equipamentos

A Tabela 5 a seguir mostra os equipamentos utilizados e suas operações:

Tabela 5 – Equipamentos e Operações do Processo

Nome	Descrição	Operação	Detalhe
SL-101	Silo	Transfer-Out	Saída de torta
GR-101	Moinho	Grind	Moagem
V-101	Tanque de esterilização	Transfer-In	Entrada de torta
		Pressurize	Pressurização a 1atm
		Heat	Aquecimento a 120°C
		Evacuate	Despressurização
		Cool	Resfriamento a 30°C
		Transfer-Out	Saída da torta
FM-102	Fermentador	Pull-In-1	Entrada da torta
		Pull-In-3	Entrada da suspensão de esporos
		React	Reação
		Transfer-Out	Saída do fermentado
		SIP	Limpeza
MX-101	Misturador	Mix	Mistura da corrente de suspensão de esporos com a água complementar
PP-103	Propagação de Esporos	Pull-In-1	Entrada de meio
		Cool	Resfriamento a 30°C

		Pull-In-2	Entrada de suspensão de esporos
		React	Reação
		Pull-In-3	Entrada de água para ressuspensão
		Split	Saída da fração líquida (suspensão)
		Transfer-Out	Saída da fração sólida
V-102	Tanque de preparo de meio	Charge	Carregamento do tanque
		Heat	Aquecimento a 99°C
		Agitate	Agitação
		Transfer-Out	Saída do meio
		SIP	Limpeza
DC-101	Centrífuga	Centrifuge	Centrifugação
SC-101	Parafuso sem fim	Convey	Transporte interno de torta
SC-102	Parafuso sem fim	Convey	Transporte interno de torta
SC-103	Parafuso sem fim	Convey	Transporte interno de torta
EX-103	Tanque de extração	Pull-In-2	Entrada de fermentado
		Pull-In-1	Entrada de água
		Heat	Aquecimento a 37°C
		Agitate	Agitação
		Transfer-Out	Saída de fermentado e extrato
MF-101	Unidade de microfiltração	Concentrate	Remoção de Sólidos
UF-101	Unidade de ultrafiltração	Concentrate	Concentração
BC-101	Esteira	Convey	Transporte interno de torta fermentada
ST-101	Esterilizador do meio	Sterilize	Esterilização do meio
HX-101	Trocador de calor	Cool	Resfriamento a 15°C
V-103	Tanque de armazenamento	Store	Armazenamento do produto

A escolha da centrífuga foi realizada devido a sua maior similaridade com o processo utilizado em laboratório, o que permite que haja uma similaridade maior entre os parâmetros determinados em laboratório e aqueles que seriam possivelmente obtidos em um processo industrial que empregasse este equipamento. Porém, o ideal nesta situação seria o emprego de um equipamento com menor custo e maior capacidade de recuperação de extrato, como um filtro prensa.

IV.2.2. Balanço de Massa

O processo foi desenhado de forma a utilizar o equivalente a 80% do potencial de produção de torta de babaçu da região do centro maranhense. A Tabela 6 a seguir ilustra o cálculo realizado para determinação deste valor:

Tabela 6 – Determinação da capacidade anual de utilização de babaçu da planta

Estimativa da capacidade anual da planta	Valor	Unidade	Detalhe
--	-------	---------	---------

Colheita de amêndoas de babaçu no Centro Maranhense	44785	ton	Fonte: SIDRA - IBGE de 2008; escolha de uma região com alta produção
Percentual de torta gerada por amêndoa	34%		Fonte: DESER, 2007
Faixa granulométrica utilizada	100%		Faixa utilizada em laboratório
Potencial de uso da torta na faixa avaliada	15226,9	ton	= colheita x % que pode virar torta x % massa da faixa granulométrica
Porcentagem aproveitada	80%		Proporção escolhida para amenizar efeitos de variação na produção
Valor a ser simulado na planta	12181,52	ton	= potencial de uso da torta x % aproveitada

Com base neste valor, estimou-se um tempo de 6 dias de duração para uma batelada (baseado em 5 dias de fermentação mais 1 dia para limpeza, carga e descarga do fermentador) que, contando com 330 dias de operação por ano, resulta em 55 bateladas por ano.

A Tabela 7 demonstra o cálculo da quantidade de matéria-prima utilizada por batelada.

Tabela 7 – Estimativa de utilização de torta por batelada

Estimativa da capacidade da planta por batelada	Valor	Unidade	Detalhe
Dias de operação por ano	330	dias/ano	estimativa com base no default do programa
Duração de uma batelada	6	dias	estimativa: 5 dias de fermentação + 1 dia para limpeza do reator
Bateladas por ano	55	bateladas/ano	= dias de operação por ano / duração de uma batelada
Quantidade de torta por batelada	221482	kg/batelada	= quantidade anual de torta / quantidade de bateladas

Por questões de praticidade, não foram considerados os balanços gasosos dos processos fermentativos, visto que as estequiometrias de consumo e geração de gases não são bem conhecidas para esse processo e que não há impactos significativos para a avaliação econômica.

IV.2.2.1. Seção de Sólidos

Como não há transformações nem perda de matéria durante a seção de sólidos, a composição e a massa das correntes se mantêm constantes ao longo desta.

O fluxo mássico foi calculado com base na determinação da massa de torta de babaçu utilizada por batelada. A proporção de torta seca e água foi calculada com base no teor de umidade determinado em laboratório.

IV.2.2.2. Preparo do Meio de Propagação

A quantidade de meio de propagação preparado por batelada foi calculada pela Equação 6 abaixo:

$$V_{meio} = \frac{\left(\frac{N_{esporos}}{m_{torta}}\right)_{experimental} * m_{torta}}{\left(\frac{N_{esporos}}{V_{meio}}\right)_{experimental}}$$

Equação 6

As quantidades dos componentes individuais foram calculadas a partir das concentrações utilizadas experimentalmente.

Antes de seguir para a etapa de propagação, o meio passou por uma etapa de esterilização com vapor para garantir a ausência de microrganismos contaminantes.

IV.2.2.3. Propagação

A quantidade de biomassa utilizada como inóculo para a fase de propagação segue a proporção utilizada experimentalmente, de 0,03L de suspensão por litro de meio, sendo que a concentração de esporos é considerada 1g/L.

A quantidade de biomassa gerada na reação foi calculada com base na Equação 7 abaixo:

$$m_{esporos} = \left[\frac{\left(\frac{N_{esporos}}{V_{meio}}\right)_{final}}{\left(\frac{N_{esporos}}{V_{meio}}\right)_{inicial}} \right]_{exp} * m_{inóculo}$$

Equação 7

O consumo dos nutrientes foi calculado considerando que a massa de esporos gerada deve ser igual à massa de meio consumida, de forma a fechar o balanço de massa para o tanque de propagação. Foi considerada mesma proporção de consumo para os nutrientes, exceto para o Agar-agar, cujo consumo não foi levado em consideração.

O volume de água utilizado na ressuspensão dos esporos foi calculado com base naquele utilizada experimentalmente, de 0,8 litros de água por litro de meio de propagação.

IV.2.2.4. Fermentação

A quantidade necessária de água para ser adicionada na corrente de suspensão foi calculada de forma a resultar em 70% de umidade na unidade de fermentação.

A relação utilizada para representar o processo fermentativo pode ser observada abaixo:



A geração de proteínas, das quais foi calculada a atividade glucoamilásica, foi calculada de acordo com a Equação 8 abaixo:

$$m_{\text{glucoamilase}} = \left(\frac{m_{\text{proteínas}}}{m_{\text{torta}}} \right)_{\text{exp}} * m_{\text{torta}}$$

Equação 8

A massa de torta fermentada foi calculada de forma que esta somada à massa de proteínas igualasse a massa de todo o babaçu alimentado ao fermentador.

Como não sabemos a perda de glucoamilases na etapa de extração, a massa e atividade obtidas nesta etapa foram consideradas iguais às determinadas experimentalmente no extrato, e a perda de atividade e massa na extração e centrifugação foram por conveniência desprezadas.

IV.2.2.5. Extração e Centrifugação

O volume de água utilizado para extração foi calculado conforme aquele utilizado experimentalmente, de 10 litros por kilograma de torta. Note que o volume de água necessário é grande para garantir o máximo possível de extração da enzima, mas apresenta a desvantagem de diluir o produto final.

Conforme apontado anteriormente, a recuperação de enzima na centrifugação foi considerada 100%. Além disso, foi considerado que a separação da torta fermentada teve 98% de eficiência e a de biomassa residual, 80%. Foi também considerado que 80% do volume de água alimentado na centrífuga foi recuperado na corrente de extrato.

Note que a corrente de saída da extração é resfriada até uma temperatura de 15°C para ajudar a prevenir a desnaturação durante o processo de centrifugação já que neste pode ocorrer elevação da temperatura o que levaria a uma perda de atividade enzimática do extrato obtido.

IV.2.2.6. Remoção de Sólidos por Microfiltração

A fração líquida saída da centrífuga passou por um processo de purificação para remoção do residual de torta fermentada e biomassa residual. A remoção destes é considerada 100% já que a granulometria da torta de babaçu e o tamanho dos esporos são consideravelmente maiores que os poros da membrana.

Foi considerada também uma perda de atividade enzimática percentual de 5% neste processo, estimado de acordo com a sugestão *default* do programa.

IV.2.2.7. Concentração por Ultrafiltração

Na ultrafiltração, foi considerado um fator de concentração de 10 vezes estimado com base no trabalho de Gottschalk *et al.* (2008). Este fator de concentração provavelmente ao seria suficiente para atingir a atividade volumétrica desejada para comercialização porém será utilizada já que não foi realizada uma determinação experimental.

Novamente, foi considerado também um fator de perda de atividade de 5% para o extrato enzimático obtido.

IV.2.3. Dimensionamento

Parâmetros de projeto devem ser definidos de forma que o programa possa realizar os cálculos de dimensionamento dos equipamentos e utilização da planta. Em todos os casos, foram utilizados os parâmetros sugeridos pelo programa SuperPro Designer versão 6, que podem ser observados na Tabela 8 a seguir:

Tabela 8 – Parâmetros para Dimensionamento da Planta

Nome	Descrição	Parâmetros
SL-101	Silo	Volume Máximo = 30000 m ³
		Porcentagem máxima de utilização do volume = 90%
		Altura / diâmetro = 3
GR-101	Moinho	Máxima vazão = 60000kg/h
V-101	Tanque de esterilização	Volume Máximo = 80000 L
		Porcentagem máxima de utilização do volume = 100%
		Altura / diâmetro = 3
FM-102	Fermentador	Volume Máximo = 50m ³
		Porcentagem máxima de utilização do volume = 90%

		Altura / diâmetro = 3
MX-101	Misturador	Máxima vazão = 720000kg/h
PP-103	Propagação de Esporos	Volume Máximo = 100m ³
		Porcentagem máxima de utilização do volume = 90%
		Altura / diâmetro = 3
V-102	Tanque de preparo de meio	Volume Máximo = 80000 L
		Porcentagem máxima de utilização do volume = 90%
		Altura / diâmetro = 3
DC-101	Centrífuga	Máxima vazão = 150000 L/min
SC-101	Parafuso sem fim	Diâmetro máximo = 50cm
		Comprimento = 15m
SC-102	Parafuso sem fim	Diâmetro máximo = 50cm
		Comprimento = 15m
SC-103	Parafuso sem fim	Diâmetro máximo = 50cm
		Comprimento = 15m
EX-103	Tanque de extração	Volume Máximo = 80000 L
		Porcentagem máxima de utilização do volume = 90%
		Altura / diâmetro = 3
MF-101	Unidade de microfiltração	Área máxima de membrana = 80m ²
UF-101	Unidade de ultrafiltração	Área máxima de membrana = 80m ²
BC-101	Esteira	Largura máxima = 150cm
		Comprimento = 100m
ST-101	Esterilizador do meio	Vazão máxima = 100000L/h
HX-101	Trocador de calor	Área máxima de troca térmica = 100m ²
V-103	Tanque de armazenamento	Volume Máximo = 50000L
		Porcentagem máxima de utilização do volume = 90%
		Altura / diâmetro = 3

Além destes parâmetros, outros parâmetros relacionados à operação do equipamento foram estabelecidos de forma que o programa possa calcular a real ocupação (uso) dos equipamentos. Na maioria dos casos, foram utilizados os parâmetros sugeridos pelo software, exceto nos casos dos equipamentos de transporte interno na planta e de carga/descarga dos equipamentos. Nestes casos, os parâmetros foram utilizados de forma que os tempos de transporte e carga/descarga dos equipamentos não fossem significativos quando comparados ao tempo de fermentação.

As operações e os respectivos parâmetros utilizados nos equipamentos podem ser observados na Tabela 9 a seguir:

Tabela 9 – Parâmetros de Operação

Nome	Descrição	Operação	Parâmetros
SL-101	Silo	Transfer-Out	Vazão mássica = 500ton/h
GR-101	Moinho	Grind	Tempo de processo = 1h
V-101	Tanque de esterilização	Transfer-In	Vazão mássica = 20ton/h
		Pressurize	Tempo de Pressurização = 10 min
		Heat	Taxa de Aquecimento = 1°C/min
		Evacuate	Tempo de Processo = 15min
		Cool	Taxa de Resfriamento = 1°C/min
		Transfer-Out	Tempo = 6h
FM-102	Fermentador	Pull-In-1	Tempo = Tempo (Convey em SC-103)
		Pull-In-3	Tempo = Tempo (Mix em MX-101)
		React	Tempo = 96h
		Transfer-Out	Tempo = 6h
		SIP	Tempo = 15min
MX-101	Misturador	Mix	
PP-103	Propagação de Esporos	Pull-In-1	Vazão Mássica = 20ton/h
		Cool	Taxa de Resfriamento = 1°C/min
		Pull-In-2	Vazão Mássica = 20ton/h
		React	Tempo = 7 dias
		Pull-In-3	Vazão Mássica = 20ton/h
		Split	Vazão Mássica = 20ton/h
		Transfer-Out	Vazão Mássica = 20ton/h
V-102	Tanque de preparo de meio	Charge	Vazão Mássica = 20ton/h
		Heat	Taxa de Aquecimento = 1°C/min
		Agitate	Tempo = 15min
		Transfer-Out	Vazão Mássica = 20ton/h
		SIP	Tempo = 15min
DC-101	Centrífuga	Centrifuge	Tempo = 3 dias
SC-101	Parafuso sem fim	Convey	Vazão Específica = 200m ³ /m ² h Velocidade de Rotação = 50 rpm
SC-102	Parafuso sem fim	Convey	Vazão Específica = 200m ³ /m ² h Velocidade de Rotação = 50 rpm
SC-103	Parafuso sem fim	Convey	Vazão Específica = 200m ³ /m ² h Velocidade de Rotação = 50 rpm
EX-103	Tanque de extração	Pull-In-2	Tempo = Tempo (Convey em BC-101)
		Pull-In-1	Vazão Mássica = 20ton/h
		Heat	Taxa de Aquecimento = 1°C/min
		Agitate	Tempo = 30min
		Transfer-Out	Tempo = 3 dias
MF-101	Unidade de microfiltração	Concentrate	Tempo = 3 dias

UF-101	Unidade de ultrafiltração	Concentrate	Tempo = 3 dias
BC-101	Esteira	Convey	Vazão Específica = 200m ³ /m ² h
ST-101	Esterilizador do meio	Sterilize	Tempo = 4h
HX-101	Trocador de calor	Cool	Coefficiente de Transferência de Calor = 1500W/m ² K
V-103	Tanque de armazenamento	Store	

IV.3. Avaliação Econômica

Para a avaliação econômica, foi necessário levantar e estimar dados relativos a equipamentos e custos de materiais, descritos ao longo desta seção. Para todos os custos onde foi necessário converter reais para dólares foi utilizada a cotação de US\$ = 1,85 R\$.

IV.3.1. Custos dos Equipamentos

O custo de investimento é estimado com base no conhecimento dos custos e capacidades dos principais equipamentos do processo, configurando-se como uma estimativa de estudo, de acordo com a classificação de Peters e Timmerhaus (1991) para estimativa de custo de investimento. Portanto, o erro esperado para esta estimativa é menor do que 30%.

Para utilização das Equações 1 e 2, referentes respectivamente à estimativa de custo de equipamentos em relação à capacidade dos mesmos e em relação à variação temporal, foram utilizados os parâmetros apresentados na Tabela 3. Para alguns equipamentos não foi possível encontrar estimativa de custo associado a capacidade que permitisse utilizar a Equação 1 – para estes casos o modelo default do *software* foi utilizado.

Em certos casos, marcados na Tabela 10 com um asterisco, não era disponível dado relativo ao expoente a ser utilizado na Equação 1. Para estes casos foi utilizado o valor médio de 0,6.

Tabela 10 - Parâmetros das equações de custos para os equipamentos

Equipamento	Parâmetros para ajuste da equação de custo				
	Q ₀	C ₀ (US\$)	a	Ano	Fonte
Armazenamento da torta	18540,15 m ³	979300	1	2007	Kwiatkowski <i>et al.</i> , 2006
Parafuso sem fim	-	-	-	-	Modelo default

Moagem	46211,33 kg/h	98200	0,6	2004	Kwiatkowski <i>et al.</i> , 2006
Tanque de esterilização da torta	50 m ³	11900	0,6*	1999	Wooley <i>et al.</i> , 1999
Tanque de preparo do meio	141,3 m ³	160900	0,6	2007	Kwiatkowski <i>et al.</i> , 2006
Esterilizador do meio	122,01 m ³ /h	100000	0,6*	2004	Zhuang, 2006
Unidade de propagação	35,41 m ³	138800	0,6	2000	Castilho <i>et al.</i> , 2000
Fermentador	35,41 m ³	138800	0,6	2000	Castilho <i>et al.</i> , 2000
Esteira de transporte	-	-	-	-	Modelo default
Tanque de extração	50 m ³	11900	0,6*	1999	Wooley <i>et al.</i> , 1999
Trocador de calor	190,05 m ²	84800	0,6	2007	Kwiatkowski <i>et al.</i> , 2006
Centrífuga	-	-	-	-	Modelo default
Unidade de microfiltração	-	-	-	-	Modelo default
Unidade de ultrafiltração	-	-	-	-	Modelo default
Tanque de armazenamento de produto	17,57	84200	0,6	2007	Kwiatkowski <i>et al.</i> , 2006

* Valores de expoente não disponíveis, estimados em 0,6

Outros custos relacionados a investimentos necessários para produção da planta física foram derivados a partir dos custos de compra do equipamentos de acordo com a Tabela 21, contendo valores dentro de faixa sugerida em Peters e Timmerhaus (1991).

Tabela 11 – Derivação de outros custos de investimento

Tipo de custo	Item	Fração do custo de equipamentos
Custos diretos	Custos dos equipamentos	-
	Instalação dos equipamentos	0,31
	Instrumentação e controle	0,15
	Encanamento	0,35
	Instalações elétricas	0,18
	Prédios	0,32
	Melhoria de terreno	0,11
	Instalações auxiliares	0,43

	Compra de terreno	0,05
	Custos diretos	-
Custos indiretos	Engenharia e supervisão	0,38
	Custo de construção	0,31
	Custo da empreiteira	0,12
	Contingência	0,31
	Custos indiretos	-
Custo total		

IV.3.2. Custos de Materiais

Os custos de materiais empregados no processo foram estimados a partir dos dados encontrados na base de dados ALICE-Web. A Tabela 12 mostra o volume de capital das importações relativas a cada produto e a massa importada para cada produto, permitindo o cálculo de preços de importação. Todos os dados são relativos ao ano de 2009. Foram utilizados os valores de importação em razão de os volumes comercializados serem maiores do que os volumes de exportação e de todos os produtos buscados possuírem dados para importação disponíveis.

Tabela 12 - Preços para insumos

Insumos		Importação		
Nome	Código	US\$ FOB	kg	US\$/kg
Agar	1302.31.00	1.510.570,00	68.527	22,04
Fosfato de dipotássio	2835.24.00	228.190,00	67.967	3,36
Sulfato ferroso	2833.29.40	7.711,00	2.463.139	0,00
Cloreto de potássio	3104.20.10	18.623.109,00	30.309.394	0,61
Sulfato de magnésio	2833.21.00	31.607,00	464.689	0,07
Nitrato de sódio	3102.50.11	4.853.916,00	9.125.000	0,53
Amido	1108.12.00	5.313.608,00	24.432.924	0,22

O custo relativo à água utilizada no processo foi estimado como o custo da água fornecida pela CEDAE para fins industriais, a R\$ 8,387863/m³. Este custo está possivelmente superestimado, pois existe expectativa de o custo na localidade escolhida (Centro Maranhense) ser menor.

A torta da amêndoa de babaçu teve seu preço estimado a partir de consulta ao mercado em US\$ 0,36/kg e este preço foi utilizado para a avaliação econômica do processo.

A metodologia de busca na base de dados ALICE-Web não foi utilizada para formar o preço do produto final, dado que os dados obtidos para o registro “outras amilases” na verdade refletem a média de vários mercados. A título informativo, o preço de importação de amilases no ano de 2009 foi US\$ 5,57/kg enquanto o preço de exportação para o mesmo período foi de US\$ 57,00/kg. Uma diferença marcante de mais de dez vezes o preço.

Para estimar o preço das amilases, portanto, utilizou-se como fonte o trabalho de Perkis *et al.* (2008), no qual se estimam custos para insumos do processo de produção de etanol a partir do milho, inclusive para a glucoamilase, a partir de consulta ao mercado dos E.U.A. O preço indicado para a glucoamilase é US\$ 6,94/kg.

Para formação do preço do sub-produto do processo, a torta de babaçu fermentada, utilizou-se uma fração (um décimo) do preço praticado para rações animais, tendo em vista que a torta fermentada teria de ser processada antes de ser incorporada a uma composição de ração animal, gerando custos para o produtor da ração. Assim, como o preço encontrado no mercado para ração animal foi de R\$ 410/ton, chegou-se a US\$ 0,022/kg de torta fermentada.

IV.3.3. Custo do Trabalho

Os custos relacionados ao trabalho foram estimados com base na remuneração de 4 salários mínimos (R\$510, no ano de 2010) para cada operador. Tomando o turno de cada trabalhador como 8 horas, têm-se US\$ 5,01 por hora trabalhada para cada operador. Somente os trabalhadores diretamente envolvidos com o processo foram contabilizados, enquanto outros são estimados através de fatores de custo aplicados sobre o montante gasto para remuneração dos operadores.

Foram alocados 3 operadores por turno para a Seção de Sólidos, 5 para a Seção de Biomassa e 3 para a Seção de Downstream, operando a planta em 3 turnos. Como a planta opera em batelada, o mesmo operador pode ser responsável por diversas etapas do processo, desde que não sejam concomitantes.

IV.3.4. Indicadores de Lucratividade

Os indicadores de lucratividade, conforme apresentados na revisão da literatura, foram calculados automaticamente pelo software.

IV.3.5. Análise de Sensibilidade

A sensibilidade do preço de produção do preparado enzimático foi analisada com relação a variações no preço da torta de babaçu e no rendimento da fermentação. Foram utilizadas variações de 20, 50, 80 e 100% do valor inicial para esta avaliação.

No caso do rendimento, foi variada a quantidade de proteínas produzida, mantendo-se a atividade por massa de proteína, e, para manter a concentração do preparado final constante, variou-se o fator de concentração da etapa de ultrafiltração.

Capítulo V. Resultados e Discussão

V.1. Parte Experimental

V.1.1. Granulometria da Torta de Babaçu

A distribuição granulométrica da torta de babaçu após a moagem pode ser observada na Figura 8 abaixo:

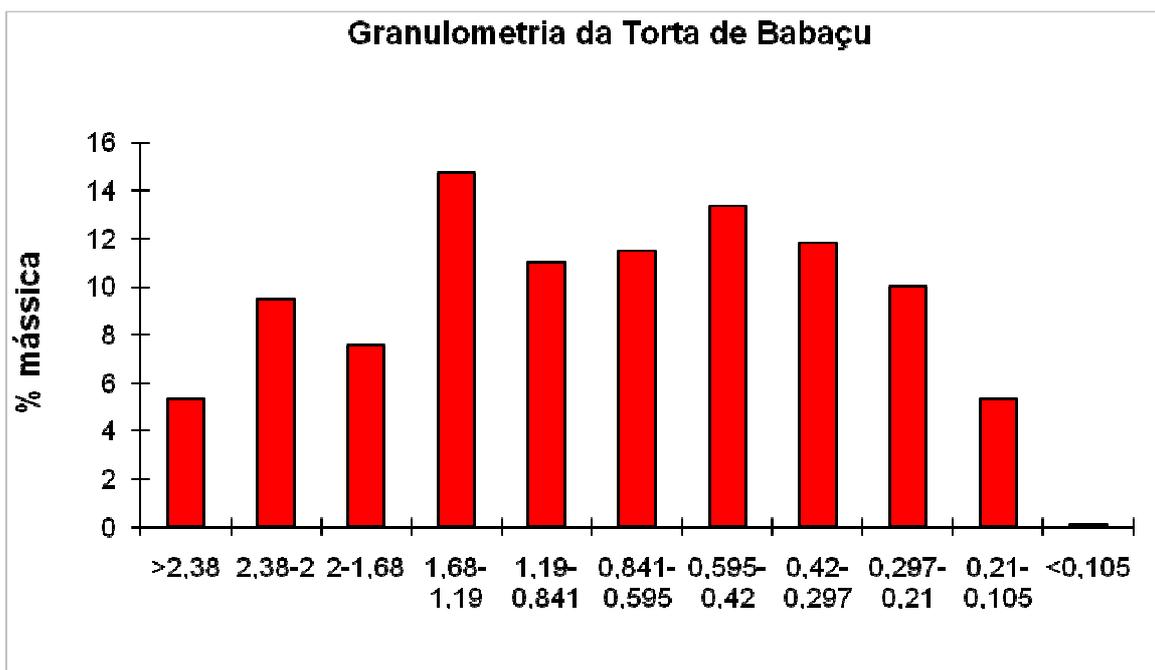


Figura 8 - Granulometria obtida para a torta de babaçu moída

Nota-se que a distribuição obtida é bastante ampla, não sendo excessivamente rica nem em faixas muito pequenas nem nas muito grandes. No entanto, é importante lembrar que esta distribuição granulométrica está sujeita a variações de acordo com o modelo do equipamento utilizado.

A distribuição granulométrica da matéria-prima é um dos fatores que influencia o crescimento do microrganismo no processo de FES já que influencia amplamente nos processos de transferência de massa em função da área superficial de contato disponível, e desta forma influencia o produto obtido por este processo. No entanto, admitiremos que a variação de granulometria não seja grande ao passarmos para um equipamento semelhante em escala industrial, e que portanto a variação no produto não será significativa.

Conforme relatado anteriormente, a granulometria do substrato pode ter grande influência na geração dos produtos extracelulares e no crescimento do microrganismo na fermentação no estado sólido. De acordo com Gutarra (2007), por exemplo, a faixa granulométrica influenciou fortemente a produção de proteínas extracelulares por *Penicillium simplicissimum* em fermentação no estado sólido utilizando torta de babaçu. Desta forma, em um estudo mais detalhado, aconselha-se que seja realizada uma avaliação da influência da granulometria na produção da glucoamilase, de forma que se possa ponderar as possíveis vantagens da utilização de uma faixa de tamanhos específica na fermentação, o que talvez diminuísse o percentual de torta aproveitável para o processo, aumentando os custos com matéria-prima, porém poderia compensar com maiores rendimentos de produto.

V.1.2. Teor de Umidade

Os resultados dos experimentos de determinação do teor de umidade podem ser observados na Tabela 13 e na Figura 9 a seguir:

Tabela 13 – Determinação do teor de umidade da torta de babaçu

Amostra	m placa seca (g)	m amostra (g)	m amostra + placa
1	44.4602	4.0042	48.4644
2	44.0513	4.0147	48.066

Amostra	peso 1	peso 2	peso 3	peso 4	peso 5	peso 6	peso 7
1	48.3106	48.2768	48.2655	48.2509	48.2462	48.2445	48.2465
2	47.8918	47.882	47.852	47.8415	47.804	47.8222	47.8195

Amostra	m inicial - m seca	% umidade	% massa seca	Média umidade	Desvio umidade	Média massa seca	Desvio massa seca
1	0.2199	5.491734	94.50827	6.01%	0.73135	93.99%	0.73135
2	0.262	6.526017	93.47398				

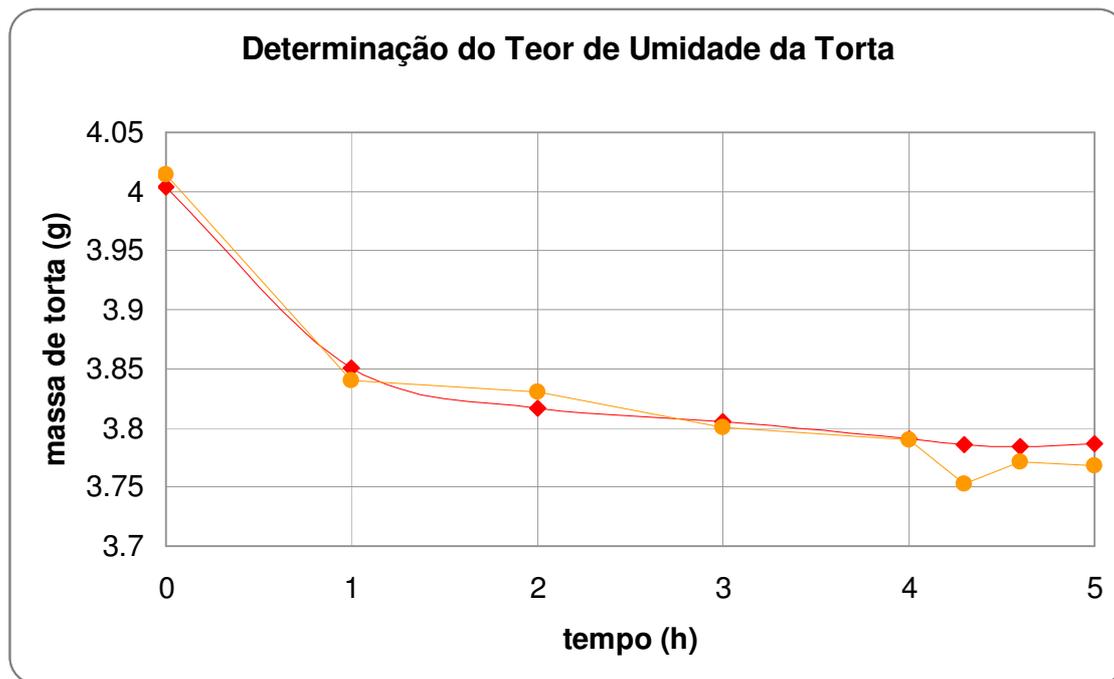


Figura 9 – Determinação do teor de umidade da torta de babaçu

Nota-se que, apesar do ponto claramente fora da curva, há uma estabilização da massa após aproximadamente 4h de secagem, indicando que foi atingido o peso seco.

A umidade inicial desejada de 70% para o processo fermentativo foi alcançada levando-se em consideração a umidade inerente ao material, já que não foi considerado um processo de secagem em escala industrial. Deve-se levar em consideração, porém, que é possível que haja uma variabilidade na umidade da torta recebida, de forma que o teor de umidade inicial na fermentação pode variar. Em um estudo mais detalhado, recomenda-se a avaliação deste fator no rendimento da fermentação e, se necessário, a proposição de uma estratégia para contornar estas variações.

Neste trabalho, por questões de simplicidade não serão consideradas variações na umidade da torta recebida.

V.1.3. Atividade Glucoamilásica

A atividade glucoamilásica alcançada pelo processo fermentativo é um dos parâmetros mais importantes a serem definidos experimentalmente, visto que não seria razoável estimá-la a partir de dados da literatura para outras enzimas ou para outras condições de produção de glucoamilases.

Vale lembrar novamente que a atividade glucoamilásica na verdade é resultado da ação sinérgica de diversas enzimas amilolíticas que podem estar presentes no extrato. Desta forma, a “massa de glucoamilases” será considerada como a massa de proteínas

extracelulares produzidas na fermentação, determinada experimentalmente, as quais apresentam uma atividade glucoamilásica por unidade de massa.

A curva-padrão para a determinação da concentração de glicose obtida pode ser observada na Tabela 14 e na Figura 10 abaixo:

Tabela 14 – Curva padrão para determinação de glicose no extrato

Ponto	g/L glicose	μmols glicose	Absorvâncias			Média abs
branco	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
1	0,050	0,028	0,104	0,100	0,102	0,102
2	0,100	0,056	0,220	0,225	0,225	0,223
3	0,124	0,069	0,360	0,361	0,366	0,362
4	0,200	0,111	0,555	0,554	0,550	0,553
5	0,333	0,185	0,830	0,831	0,833	0,831

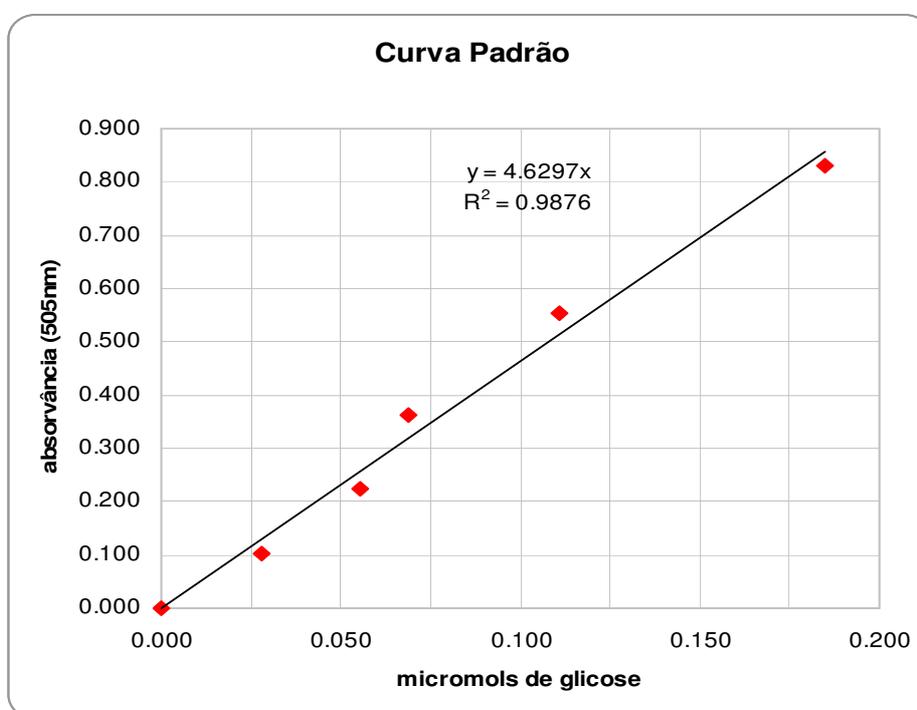


Figura 10 – Curva padrão para determinação de glicose no extrato

Desta forma, a equação obtida para calcular a quantidade de glicose na amostra é (Equação 9):

$$\text{micromols de glicose} = \frac{\text{absorvância}}{4,6297} * \text{diluição}$$

Equação 9

Utilizando esta curva padrão, foi possível determinar as quantidades de glicose, as atividades glucoamilásicas e as produtividades dos experimentos de fermentação.

Estes resultados estão apresentados na Tabela 14 e na Figura 11 e Figura 12 abaixo:

Tabela 15 – Quantidades de glicose, atividades e produtividades da fermentação

Tempo (h)	diluição	Branco	Abs1	Abs2	Abs3	Abs m	Abs m - Bco
0	1	0,266	0,264	0,299	0,303	0,289	0,023
24	1	0,046	0,058	0,063	0,057	0,059	0,013
48	5	0,056	0,243	0,232	0,240	0,238	0,182
72	10	0,084	0,249	0,268	0,243	0,253	0,169
96	15	0,065	0,228	0,237	0,210	0,225	0,160

Tempo (h)	Glicose (μmols)	Atividade (U/g_{MP})	Produtividade ($\text{U/g}_{\text{MP}} \text{ h}$)
0	0,005	0,403	-
24	0,003	0,237	0,010
48	0,197	16,189	0,337
72	0,366	30,070	0,418
96	0,362	42,619	0,444

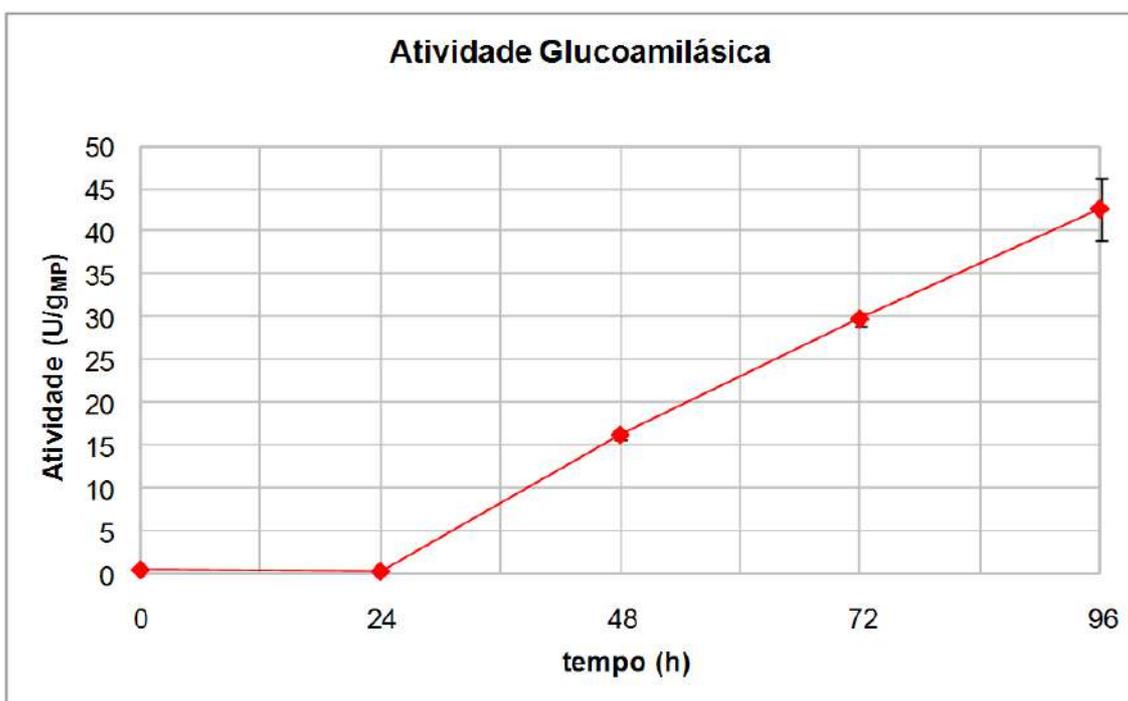


Figura 11 – Atividade glucoamilásica dos extratos

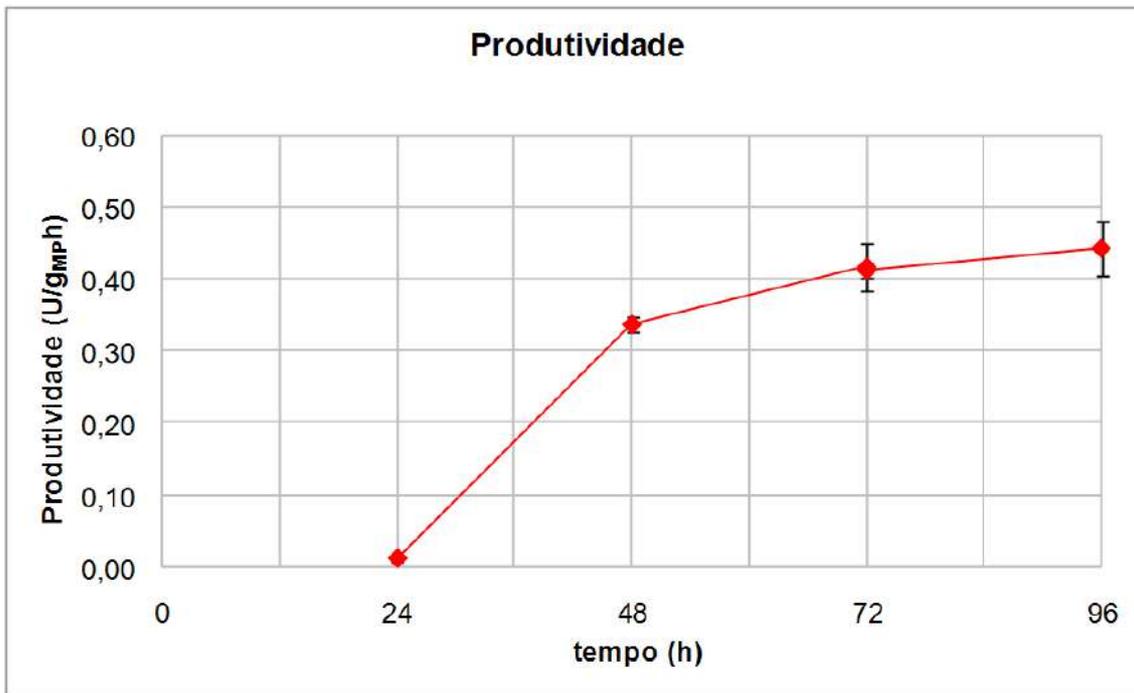


Figura 12 - Produtividade dos experimentos de fermentação

Nota-se que a maior atividade e a maior produtividade foram atingidas simultaneamente, em 96h. Este resultado sugere que o tempo utilizado para o processo de fermentação deve ser de 96h. Nota-se, porém, que não houve uma estabilização ou decaimento da produção de glucoamilases, o que sugere que tempos maiores poderiam produzir maiores rendimentos e produtividades.

Como as definições de atividade podem variar fortemente entre os diferentes trabalhos produzidos na área, não é possível estabelecer uma comparação com valores obtidos previamente na literatura. Vale ressaltar, porém, que em trabalhos futuros o processo de fermentação deveria ser otimizado em relação aos seus diversos parâmetros, como a granulometria, conforme citado anteriormente, de forma que se possa obter o melhor valor possível de atividade e produtividade.

Outro aspecto que não foi considerado neste trabalho mas que em termos de aplicação industrial seria relevante, é a atividade proteásica. A atividade de proteases no extrato pode levar à degradação das enzimas de interesse, desta forma diminuindo a atividade enzimática e a estabilidade do produto final obtido. Sendo assim, uma sugestão para estudos mais aprofundados seria aliar a otimização com relação a produtividade e atividade a uma comparação com a atividade proteásica de forma a considerar as melhores condições de processo.

V.1.4. Teor de proteínas

A curva padrão obtida é mostrada a seguir (Equação 10).

$$[Proteínas]_{extrato} \text{ (g/L)} = (0,0261 * Abs^2 + 0,0238 * Abs) * diluição$$

Equação 10

Nota-se que não é uma reta, como as curvas relacionadas às quantificações enzimáticas, e sim uma polinomial de segunda ordem. Este fato ocorre, pois esse método baseia-se em uma mudança do comprimento de onda de máxima absorção de cor (de 465 para 595 nm) que a forma aniônica do corante *Coomassie blue* G-250 sofre quando se liga não covalentemente a proteínas. Ou seja, originalmente o reagente com o corante já possui uma coloração detectável no comprimento de onda utilizado nas quantificações, e parte dessa coloração é alterada durante o período de incubação (Mikkelsen e Cortón, 2004).

Com base na Equação 5, os teores de proteínas obtidos podem ser observados na Tabela 16 e na Figura 13 a seguir:

Tabela 16 – Teores de proteína da fermentação

Tempo	Diluição	Absorvâncias			
		Experimento 1		Experimento 2	
0	4	0,3884	0,3331	0,3760	0,4054
24	4	0,2878	0,3568	0,3060	0,2520
48	16	0,2483	0,2535	0,2699	0,2607
72	32	0,3169	0,3191	0,1598	0,1765
96	32	0,4822	0,4789	0,2095	0,2102

Tempo	Proteínas totais (mg/g MP _{inicial})				Média Exp 1	Desvio % Exp 1	Média Exp 2	Desvio % Exp 2
	Experimento 1		Experimento 2					
0	0,812754	0,667391	0,779303	0,859419	0,740072	13,88886	1,761813	6,913996
24	0,555647	0,728484	0,599748	0,472011	0,642066	19,0345	1,987411	16,85531
48	1,854407	1,901729	2,053254	1,967825	1,878068	1,781687	2,309862	3,004507
72	5,013367	5,057209	2,204829	2,473194	5,035288	0,615678	2,314758	8,112962
96	8,654622	8,575046	3,024613	3,036614	8,614834	0,653158	2,273925	0,279997

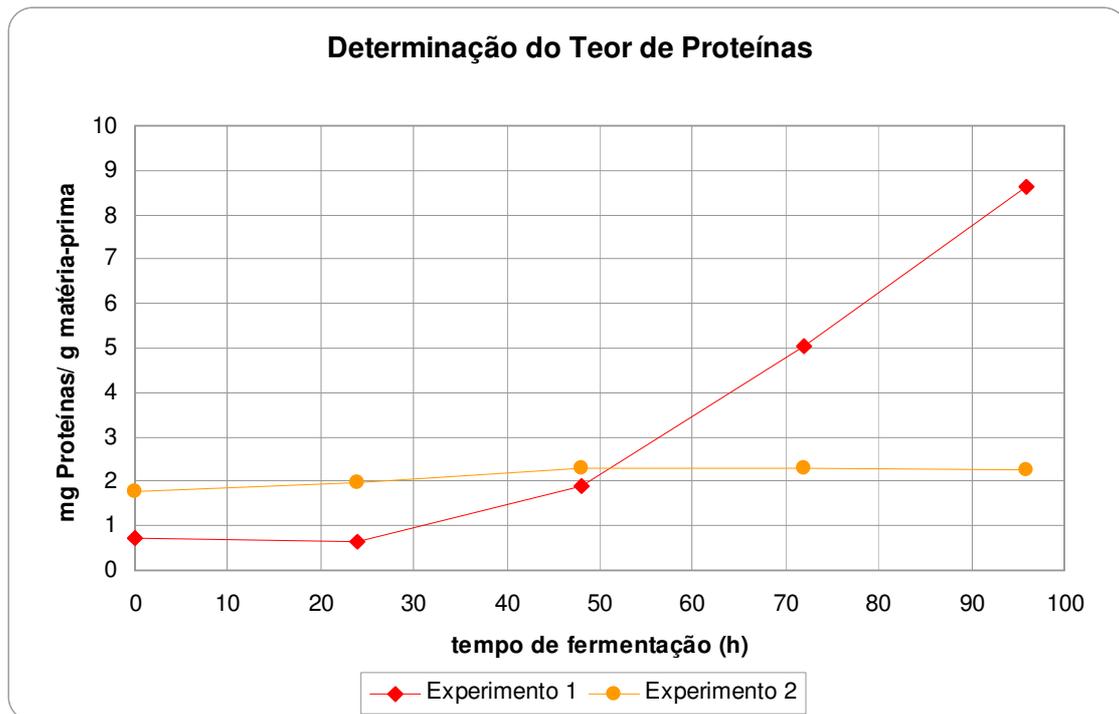


Figura 13 – Teores de proteína dos extratos

Nota-se que o experimento 2 não apresentou um comportamento razoável, sugerindo que seu resultado não deve ser considerado significativo. Com base no experimento 1, o teor de proteínas extracelulares após 96h de fermentação será adotado como 8mg PTN/g matéria-prima.

O teor de proteínas extracelulares indica a produção de principalmente enzimas, que são secretadas pelo fungo para catalisar a hidrólise dos componentes insolúveis da matéria-prima permitindo sua solubilização e aproveitamento pelo microrganismo. O parâmetro realmente a ser avaliado neste processo é a atividade glucoamilásica gerada por massa de matéria-prima utilizada, porém um baixo teor de atividade glucoamilásica por massa de proteína pode indicar a presença de outras enzimas indesejáveis, implicando que um alto teor de atividade glucoamilásica por massa de proteína é desejável. Neste caso, um alto teor de proteínas pode ser indicativo de uma maior produção de enzimas com atividade glucoamilásica e seria portanto desejável.

Valores consideravelmente maiores de produção de proteínas extracelulares em fermentação no estado sólido por fungos filamentosos são reportados na literatura, como no trabalho de Gutarra (2007) que visa a produção de lipases, no qual se reporta a produção de 99mg de proteínas por grama de torta de babaçu por *Penicillium simplicissimum*. Novamente, uma sugestão para estudos mais aprofundados é a

otimização dos parâmetros da fermentação de forma a atingir maior produção de proteínas extracelulares com alta atividade glucoamilásica por unidade de massa.

V.1.5. Contagens de Esporos e Volumes de Água

Os resultados das contagens de esporos e os volumes de água necessários podem ser observados na Tabela 17 a seguir. Para um resumo dos resultados obtidos na parte experimental, consultar o Anexo A2 – Balanços de Massa.

Tabela 17 – Contagens de esporos e volumes de água

	Valor	Unidade	Fonte
- Propagação			
Concentração da suspensão de esporos após a ressuspensão	$7,70 \cdot 10^{11}$	esporos/L	pela contagem da câmara de Neubauer
Quantidade de esporos ao final da propagação	$3,85 \cdot 10^{10}$	esporos/L meio	
- Extração			
Volume de água para extração	10	L água/kg torta	utilizado experimentalmente
Volume de água recuperado	6	L água/kg torta	determinado experimentalmente

A recuperação de água na forma de extrato líquido de apenas 60% da água utilizada para extração é uma limitação do processo em laboratório, no qual esta se dá manualmente. Em um processo industrial, porém, pode-se assumir que seria possível obter um valor mais favorável mesmo que com uma quantidade de sólidos maior que a obtida em laboratório.

V.2. Síntese do Processo

O fluxograma obtido para o processo pode ser observado na Figura 14 a seguir. O processo proposto é dividido em três seções:

- Seção de Sólidos: compreendendo transporte, armazenamento, moagem e esterilização da torta de babaçu;
- Seção de Biomassa: compreendendo preparo de meio para propagação, propagação do inóculo e fermentação;
- Seção de *downstream*: compreendendo extração, recuperação, purificação, concentração e armazenagem do produto final.

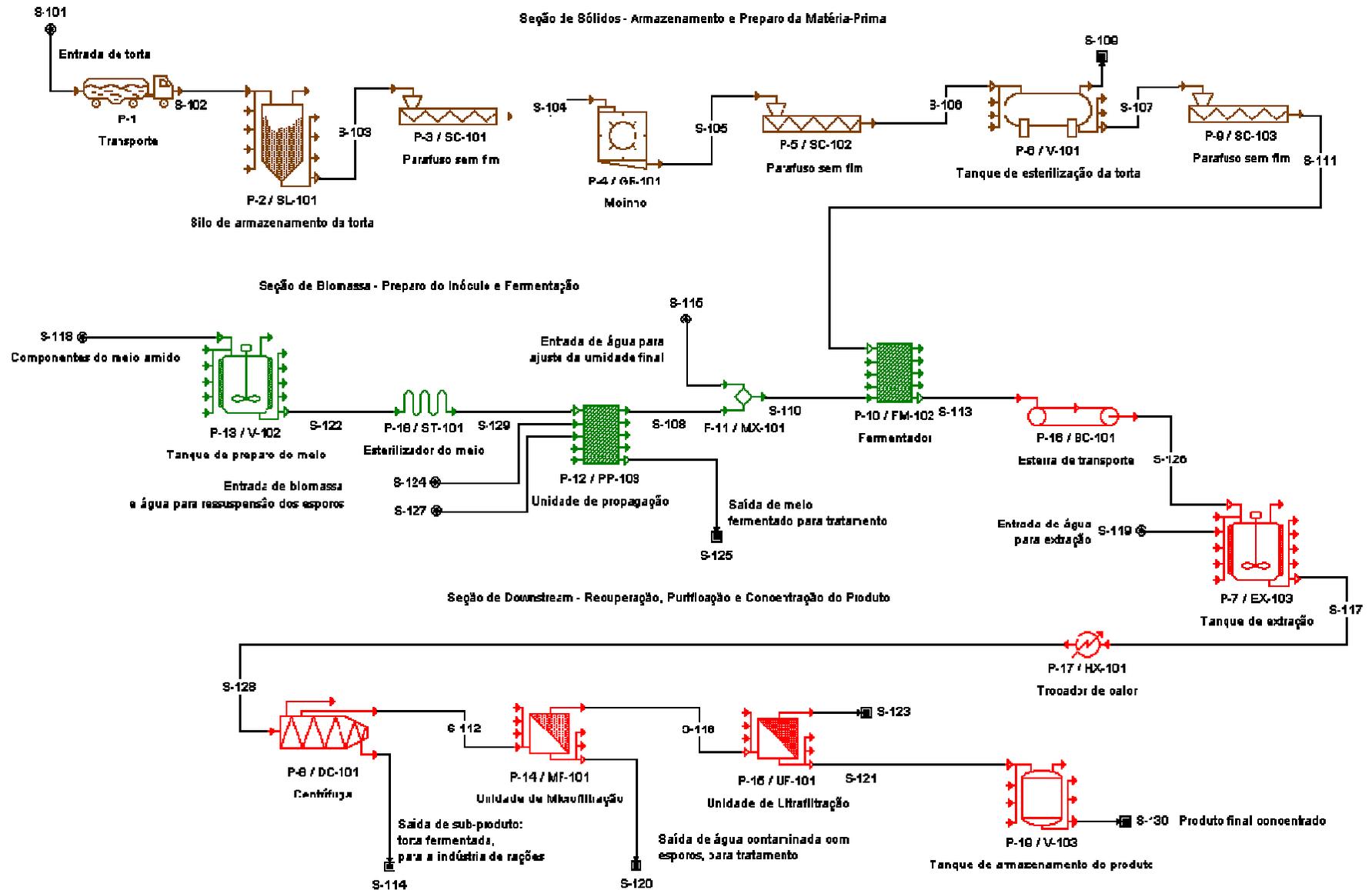


Figura 14 – Fluxograma proposto para o processo de produção de glucoamilase

V.2.1. Balanço de Massa

O balanço de massa para a planta, calculado conforme descrito na seção 0 -

A escolha da centrífuga foi realizada devido a sua maior similaridade com o processo utilizado em laboratório, o que permite que haja uma similaridade maior entre os parâmetros determinados em laboratório e aqueles que seriam possivelmente obtidos em um processo industrial que empregasse este equipamento. Porém, o ideal nesta situação seria o emprego de um equipamento com menor custo e maior capacidade de recuperação de extrato, como um filtro prensa.

Balanço de Massa, pode ser observado na Tabela 18 a seguir:

Tabela 18 – Balanço de Massa da Planta

Balanço de Massa para a Planta	Valor	Unidade
- Seção de Sólidos		
Quantidade de torta por batelada	221482,182	kg
Quantidade de torta seca por batelada	208193,251	kg
Quantidade de água na corrente de torta	13288,931	kg
- Propagação		
Volume de Meio de Propagação	54076,169	L
Composição da Corrente de Meio:		
- Agar-agar	1081,523	kg
- Amido	540,762	kg
- NaNO ₃	162,229	kg
- MgSO ₄	27,038	kg
- KCl	27,038	kg
- FeSO ₄ .7H ₂ O	0,162	kg
- KH ₂ PO ₄	54,076	kg
Volume de suspensão de esporos inoculada na propagação	1351,904	L
Massa de esporos inoculada na propagação	1,352	kg
Massa de água na corrente de suspensão inoculada	1343,464	kg
Massa de esporos ao final da propagação	41,639	kg
Massa de esporos aumentada durante a propagação	40,287	kg
Massa Consumida durante a Propagação:		
- Agar-agar	-	
- Amido	26,852	kg
- NaNO ₃	8,056	kg

- MgSO ₄	1,343	kg
- KCl	1,343	kg
- FeSO ₄ ,7H ₂ O	0,008	kg
- KH ₂ PO ₄	2,685	kg
Volume de água para ressuspensão dos esporos	43260,935	L
Massa de água para ressuspensão dos esporos	43031,839	kg
Massa de água que sai na corrente de suspensão	44375,304	kg
% de água que sai na corrente de suspensão	46,65%	
- Fermentação		
Massa de água para umidade de 70% da torta	485784,252	kg
Massa de água que deve ser adicionada à suspensão de esporos	428120,018	kg
Massa de proteínas produzidas na fermentação	1665,546	kg PTN
Massa de torta fermentada que sai da fermentação	206527,701	kg
- Extração		
Volume de água para extração	2081932,509	L
Fração recuperada após centrifugação	100%	
Volume recuperado após centrifugação	2081932,51	L
Atividade glucoamilásica recuperada na extração	8872988160	U
Massa de proteínas recuperadas na extração	1665,546	kg PTN
- Centrifugação		
Massa de proteínas recuperadas na centrifugação	1665,383	kg
Massa de torta fermentada recuperada	202397,147	kg
- Purificação por Microfiltração		
Massa de extrato recuperada	1263396,91	kg
Massa de proteínas no extrato	1503,06	kg
Atividade do extrato	6,33	U/mL
- Concentração por Ultrafiltração		
Massa de preparado recuperada	126406,6	kg
Massa de proteínas no preparado	1503,06	kg
Atividade do preparado	63,27	U/mL

No Anexo A2 – Balanços de Massa podem ser encontrados a versão completa, com cálculos intermediários, do balanço de massa, o resumo dos resultados experimentais e os cálculos de capacidade da planta.

O inventário das correntes pode ser observado no Anexo A3 – Inventário das Correntes.

Nota-se que houve uma produção por batelada de 126 toneladas, o que resulta em uma produção anual de 5.435 toneladas. Esta produção é considerada alta, ao mesmo tempo que a concentração do produto final é baixa. Para resolver este problema, etapas adicionais de concentração, otimização das etapas de concentração e principalmente otimização dos parâmetros da fermentação deveriam ser estudados.

Por exemplo, para efeitos de comparação, caso a atividade deste extrato pudesse ser considerada a mesma da glucoamilase utilizada em Kwiatkowski *et al.* (2006), esta produção seria capaz de atender 15 plantas de mesma necessidade de glucoamilases da planta exemplificada, que tem produção anual de 119.000 toneladas de etanol. Já caso a concentração do produto utilizado no trabalho citado fosse 200 vezes maior, o que seria razoável para um produto comercial, a planta de produção de glucoamilases simulada seria capaz de suprir apenas aproximadamente 10% da demanda de atividade enzimática da planta de produção de etanol.

V.2.2. Dimensionamento

As dimensões e quantidades dos equipamentos, determinadas conforme os parâmetros discutidos anteriormente são apresentadas na Tabela 19 a seguir:

Tabela 19 – Dimensões dos equipamentos

Nome	Descrição	Quantidade	Dimensão
SL-101	Silo	1	Volume = 1.447,60 m ³
GR-101	Moinho	4	Capacidade = 55.370,55 kg/h
V-101	Tanque de esterilização	3	Volume = 56.364,62 L
FM-102	Fermentador	16	Volume = 47.755,17 L
MX-101	Misturador	1	Capacidade = 179.407,57 kg/h
PP-103	Propagação de Esporos	2	Volume = 54.234,69 L
V-102	Tanque de preparo de meio	1	Volume = 61,42 m ³
DC-101	Centrífuga	1	Capacidade = 637,86 L/min
SC-101	Parafuso sem fim	16	Comprimento = 15,00 m
SC-102	Parafuso sem fim	8	Comprimento = 15,00 m
SC-103	Parafuso sem fim	2	Comprimento = 15,00 m
EX-103	Tanque de extração	4	Volume = 771,20 m ³

MF-101	Unidade de microfiltração	11	Área de membrana = 79,887 m ²
UF-101	Unidade de ultrafiltração	10	Área de membrana = 79,111 m ²
BC-101	Esteira	1	Comprimento = 100,00 m
ST-101	Esterilizador do meio	1	Capacidade = 13.519,04 L/h
HX-101	Trocador de calor	1	Área de troca de calor = 35,63 m ²
V-103	Tanque de armazenamento	3	Volume = 46.893,81 L

Nota-se que alguns equipamentos tiveram que ser utilizados com várias unidades, como o fermentador, os parafusos de transporte e as unidades de filtração. No caso do fermentador, o grande volume imposto pelas grandes massas de matéria-prima e água empregadas exigem um volume muito grande, porém este volume pode ser alcançado em um reator de bandejas pela utilização de um grande número de bandejas, implicando também em uma grande necessidade de área.

O grande número de unidades de microfiltração e ultrafiltração é resultado do grande volume de água utilizado na etapa de extração e da área máxima de membrana imposta na metodologia de dimensionamento. A recomendação para estudos futuros seria otimizar a etapa de extração de forma a minimizar a quantidade de água necessária sem perder eficiência na recuperação de enzima.

V.3. Avaliação Econômica

V.3.1. Ocupação dos Equipamentos

Preliminarmente à avaliação econômica propriamente dita, é importante avaliar o processo projetado do ponto de vista da ocupação temporal dos recursos, ou seja, de como a dependência entre etapas dita a dinâmica do processo, que possui diversas etapas descontínuas.

Para uma análise sucinta do aspecto da ocupação dos recursos, o gráfico de Gantt (Figura 15) de ocupação dos equipamentos pode ser utilizado. Neste gráfico, são representadas 3 bateladas e torna-se evidente que o recurso limitante em relação às operações sequenciais é a propagação de esporos (PP-103).

Inicialmente, a planta havia sido projetada tendo como alvo utilizar 80% da produção anual da região Centro Maranhense, processando assim 12.181,52 toneladas por ano. O número de bateladas para a planta foi concebido com o tempo de operação da fermentação, de 96h acrescido de 1 dia para preparo e carga e descarga do

fermentador. Assim, para 330 dias de operação chegou-se a 55 bateladas por ano e uma carga de 221.482 kg de torta processadas por batelada (ver Tabela 8). E todos os equipamentos foram projetados para processar esta carga.

No entanto, como já descrito, a etapa que de fato é limitante no processo é a produção de esporos. O tempo de término de um ciclo para a planta foi de aproximadamente 177 horas (pouco mais de 7 dias). Assim, foi possível realizar 43 bateladas por ano (e não 55) diminuindo o uso total de torta para 9.966,70 toneladas por ano, o que representa 65,45% da produção anual do Centro Maranhense em 2009, e não 80% como admitido nas premissas.

Desta maneira, um redesenho do fluxograma poderia gerar ganhos em relação à escala da planta e à economicidade do processo. Para resolução do gargalo apresentado pela etapa de produção de esporos, a adição de outra unidade de geração de esporos trabalhando em paralelo, levaria o gargalo para a etapa de fermentação. No entanto, tal redesenho não foi realizado.

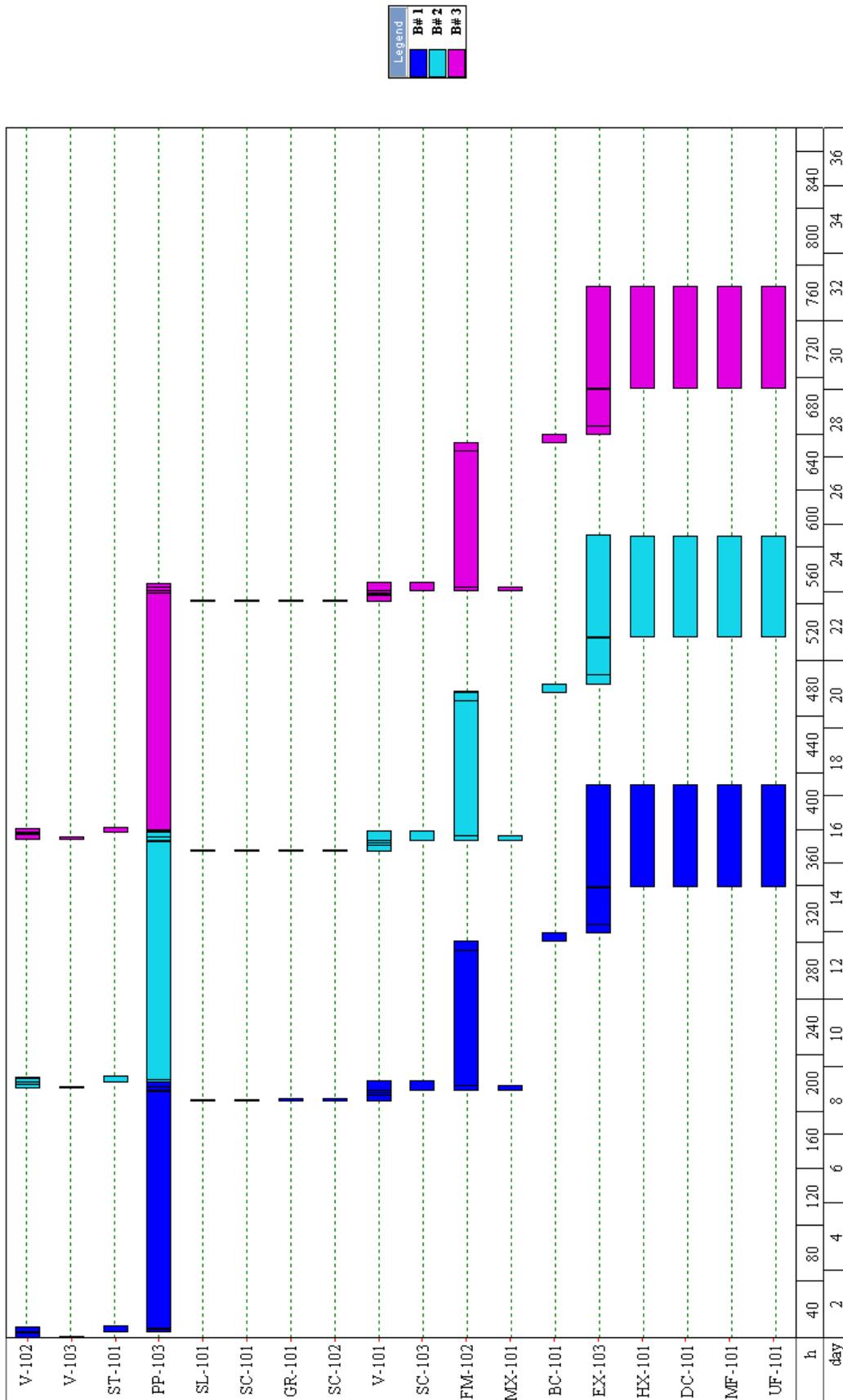


Figura 15 - Gráfico de Gantt de ocupação dos equipamentos

V.3.2. Custos de Investimento

Os custos relativos à compra de equipamentos, calculados de acordo com a metodologia apresentada na Tabela 10 - Parâmetros das equações de custos para os equipamentos, são apresentados na Tabela 20 a seguir. Os custos relacionados a equipamentos não listados, como bombas e compressores, são estimados em 25% dos equipamentos listados, como sugerido pelo *software*.

Tabela 20 - Custos dos equipamentos

Nome	Descrição	Quantidade	Custo unitário (US\$)	Custo total (US\$)
SL-101	Silo	1	87.000	87.000
GR-101	Moinho	4	144.000	576.000
V-101	Tanque de esterilização	3	19.000	57.000
FM-102	Fermentador	16	246.000	3.936.000
MX-101	Misturador	1	0	0
PP-103	Propagação de Esporos	2	179.000	358.000
V-102	Tanque de preparo de meio	1	111.000	111.000
DC-101	Centrífuga	1	255.000	255.000
SC-101	Parafuso sem fim	16	119.000	1.904.000
SC-102	Parafuso sem fim	8	103.000	824.000
SC-103	Parafuso sem fim	2	63.000	126.000
EX-103	Tanque de extração	4	508.000	2.032.000
MF-101	Unidade de microfiltração	11	124.000	1.364.000
UF-101	Unidade de ultrafiltração	10	124.000	1.240.000
BC-101	Esteira	1	262.000	262.000
ST-101	Esterilizador do meio	1	35.000	35.000
HX-101	Trocador de calor	1	35.000	35.000
V-103	Tanque de armazenamento	3	173.000	519.000
Equipamentos não listados				3.428.000
TOTAL				17.140.000

Nota-se que, conforme esperado, o custo relativo aos fermentadores, que são 16, além dos custos dos tanques de extração, parafusos e unidades de filtração são bastante representativos dentro dos custos de equipamentos.

Outros custos relacionados a investimentos necessários para produção da planta física, derivados conforme a Tabela 11, podem ser observados na Tabela 21 abaixo:

Tabela 21 - Outros custos de investimento

Tipo de custo	Item	Fração do custo de equipamentos	Custos (US\$)
Custos diretos	Custos dos equipamentos	-	17.140.000
	Instalação dos equipamentos	0,31	5.965.000
	Instrumentação e controle	0,15	3.958.000
	Encanamento	0,35	5.999.000
	Instalações elétricas	0,18	2.642.000
	Prédios	0,32	6.206.000
	Melhoria de terreno	0,11	2.107.000
	Instalações auxiliares	0,43	7.204.000
	Compra de terreno	0,05	746.000
	Custos diretos	-	51.967.000
Custos indiretos	Engenharia e supervisão	0,38	17.420.000
	Custo de construção	0,31	12.826.000
	Custo da empreiteira	0,12	4.311.000
	Contingência	0,31	9.772.000
	Custos indiretos	-	48.942.000
Custo total			100.295.000

V.3.3. Custos de Operação

Os custos dos materiais utilizados nos processos são mostrados na Tabela 17.

Tabela 22 - Custos das matérias-primas

Matérias-primas	Custo unitário (\$/kg)	Quantidade anual (kg/ano)	Custo anual (\$)	%
Água	0,005	112.016.372	508.000	10,7
Babaçu	0,357	8.952.310	3.194.000	67,32
Amido	0,217	23.253	5.000	0,11
Agar-agar	22,043	46.505	1.025.000	21,61
Sulfato de magnésio	0,068	1.163	0	0
Fosfato de dipotássio	3,36	2.325	8.000	0,16
Sulfato de ferro	0,003	2	0	0
Nitrato de sódio	0,532	6.976	4.000	0,08
Cloreto de potássio	0,614	1.163	1.000	0,02
TOTAL		121.050.127	4.744.000	100

Nota-se que, além do custo da torta de babaçu, que é inerente ao processo, o custo do Agar utilizado para a propagação também é bastante significativo dentro dos custos com matérias-primas. Este fato, aliado ao fato do tempo de propagação ser um gargalo para o processo, sugere que a etapa de propagação de esporos deve ser intensamente estudada antes de ser concebida uma aplicação industrial deste processo, visando otimizar o tempo e minimizar o custo desta etapa, por meio de modificação da condução do processo, do tipo de meio, dos parâmetros do processo entre outros..

Os custos das utilidades necessárias para o funcionamento da planta são apresentados na Tabela 23, constituindo-se de gastos em energia e fluidos de troca de calor.

Tabela 23 - Custo de utilidades

Utilidade	Quantidade anual	Unidade	Custo anual (US\$)	%
Eletricidade	1.762.529	kWh	176.253	42,2
Vapor	3.529.409	kg	14.824	3,55
Vapor (Alta Pressão)	447.310	kg	3.444	0,82
Água de resf. (25 °C)	35.673.431	kg	3.567	0,85
Água gelada (5 °C)	548.928.176	kg	219.571	52,57
TOTAL			417,659	100

Os custos relacionados aos operadores da planta foram de de US\$ 1.004.000 por ano, com o gasto de 87.120 hora de trabalho dos operadores a um custo estimado por US\$ 11,52 por hora, incluindo gastos administrativos e custos indiretos.

A Tabela 24 ilustra todos os custos operacionais da planta.

Tabela 24 - Custos Operacionais

Item de custo	Custo	%
Matérias-Primas	4.744.000	17,1
Trabalho	1.004.000	3,62
Dependente da planta	18.923.000	68,2
Laboratório/CQ	151.000	0,54
Descartáveis	2.126.000	7,66
Utilidades	418.000	1,51
Transporte	381.000	1,37
TOTAL	27.746.000	100

Nota-se que o item chamado dependente da planta, que resume em si a depreciação dos equipamentos, custos de manutenção e custos de natureza variada, se apresenta como grande fonte de custos.

O item descartáveis refere-se ao custo relacionado às membranas de microfiltração e ultrafiltração, que, com uma área total anual de 5.316 m², totalizaram US\$ 2.126.000. Como sugerido anteriormente, um trabalho de otimização das condições de concentração é necessário para melhorar as características do produto final obtido. Esta etapa teria impacto também nesse item de custo, de descartáveis, além de no custo de investimento nos equipamentos de filtração.

Considerando todos os custos descritos e a produção total de glucoamilase da planta, chega-se ao custo de produção de US\$ 5,10 por kilograma de produto. Nota-se imediatamente que este valor é menor do que o valor de mercado sugerido em Perkis *et al.* (2008) de US\$ 6,94 por kilograma, de maneira que pode-se prever lucro nas operações.

V.3.4. Indicadores de Lucratividade

Com uma venda de 5.435.483 kg de produto por ano e o custo de produção de US\$ 5,10 por kilograma de produto, e o preço de mercado de US\$ 6,94 por kilograma, têm-se uma receita anual de US\$ 37.940.000. Comparando o lucro líquido aos custos de investimento (US\$ 105.878.000) obtêm-se um ROI de 14,78%, sendo necessário notar que, dado que se trata de uma estimativa de estudo para o custo de investimento, pode haver erro de até 30% neste item. O erro máximo considerado (de 30% sobre o valor do custo de investimento) coloca o ROI dentro da faixa de 11,37% a 21,11%.

Comparando-se o lucro e a renda têm-se uma margem bruta de lucro de 26,87%, com pouca influência da imprecisão na estimativa do custo de investimento, que impactaria este indicador somente em custos de manutenção, que são calculados com base no custo de investimento.

Nota-se que a planta possui alta capacidade de gerar lucros operacionais, mas o alto custo de investimento pode ter impacto profundo sobre o fluxo de caixa e o desempenho do investimento sob o ponto de vista dos indicadores Valor Presente Líquido e Taxa Interna de Retorno.

V.3.4.1. Fluxo de Caixa

O Fluxo de Caixa projetado quando prevendo 15 anos de operação da planta, sem a previsão de tomada de empréstimos (ou seja, prevendo que o grupo investidor se responsabiliza por cobrir todos os custos), com um tempo de construção de 30 meses e de *start up* da planta de 4 meses é apresentado na Tabela 25.

Tabela 25 – Fluxo de Caixa (em milhares de US\$)

Ano	Investimento	Receita	Custo de Operação	Lucro Bruto	Depreciação	Lucro Tributável	Impostos	Lucro Líquido	Fluxo de Caixa Líquido
1	-30.089	0	0	0	0	0	0	0	-30.089
2	-40.118	0	0	0	0	0	0	0	-40.118
3	-30.657	18.970	23.837	-4.867	9.528	0	0	4.661	-25.995
4	0	37.940	27.746	10.193	9.528	10.193	4.077	15.644	15.644
5	0	37.940	27.746	10.193	9.528	10.193	4.077	15.644	15.644
6	0	37.940	27.746	10.193	9.528	10.193	4.077	15.644	15.644
7	0	37.940	27.746	10.193	9.528	10.193	4.077	15.644	15.644
8	0	37.940	27.746	10.193	9.528	10.193	4.077	15.644	15.644
9	0	37.940	27.746	10.193	9.528	10.193	4.077	15.644	15.644
10	0	37.940	27.746	10.193	9.528	10.193	4.077	15.644	15.644
11	0	37.940	27.746	10.193	9.528	10.193	4.077	15.644	15.644
12	0	37.940	27.746	10.193	9.528	10.193	4.077	15.644	15.644
13	0	37.940	18.218	19.721	0	19.721	7.889	11.833	11.833
14	0	37.940	18.218	19.721	0	19.721	7.889	11.833	11.833
15	5.583	37.940	18.218	19.721	0	19.721	7.889	11.833	17.416

Através dos resultados mostrados na Tabela 25, pode-se derivar alguns resultados de indicadores interessantes: a Taxa Interna de Retorno (IRR) sem impostos foi de 14.30%, enquanto a IRR com impostos foi de 9,61%. O Valor Presente Líquido, fortemente dependente do custo de capital, foi avaliado para 3 patamares de custo de capital: 7, 9 e 11%, resultando, respectivamente, em US\$ 15.656.000,00 , 3.446.000,00 e -6.555.000,00. Nota-se que, quando comparada ao investimento que resulta em 11% de renda, o investimento neste projeto se torna desvantajoso.

O tempo de retorno de investimento foi calculado em 6,77 anos e taxa interna de retorno em 9,61%. Estes indicadores poderiam ser melhorados se fosse considerada um empréstimo a juros baixos, de forma a diminuir o impacto dos primeiros anos (de

investimento) ao fluxo de caixa. No entanto, não foram feitas especulações em relação a nenhum empréstimo.

Ainda, pode-se prever um melhor desempenho para o processo se o gargalo existente for eliminado, adicionando unidades de produção de esporos trabalhando em paralelo.

V.3.5. Análise de Sensibilidade

A análise de sensibilidade em relação ao preço da torta de babaçu é representada pelos gráficos da Figura 16 e da Figura 17. Nota-se que na variação máxima estudada (100% do preço da torta), que representa um aumento de US\$ 0,36 para US\$ 0,71 por quilograma, o custo de produção sofre variação percentual pequena (de 11,6%), levando o custo de produção de US\$ 5,10 para US\$ 5,69 por quilograma de preparado enzimático. Com o valor de mercado de US\$ 6,69 por quilograma, nota-se que ainda haveria lucro na operação da planta.

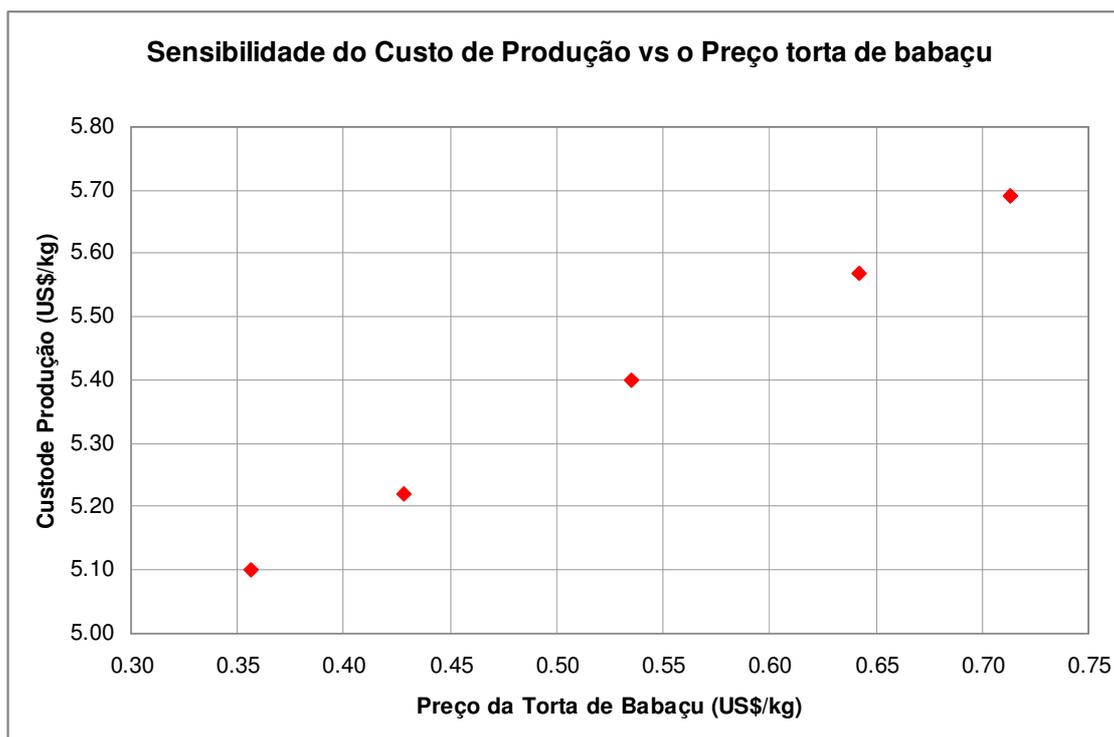


Figura 16- Gráfico de análise de sensibilidade do custo de produção em relação ao preço da torta em valores absolutos

Nota-se que a relação entre o custo de matéria-prima e o custo de produção do preparado enzimático é praticamente linear, sendo que uma variação de aproximadamente 10 centavos no primeiro gera uma variação de aproximadamente 20 centavos no segundo. Em termos de porcentagem, porém, como pode ser observado na

Figura 17 abaixo, esta variação não é significativa, indicando que este parâmetro não tem influência muito significativa no preço de produção do preparado enzimático.

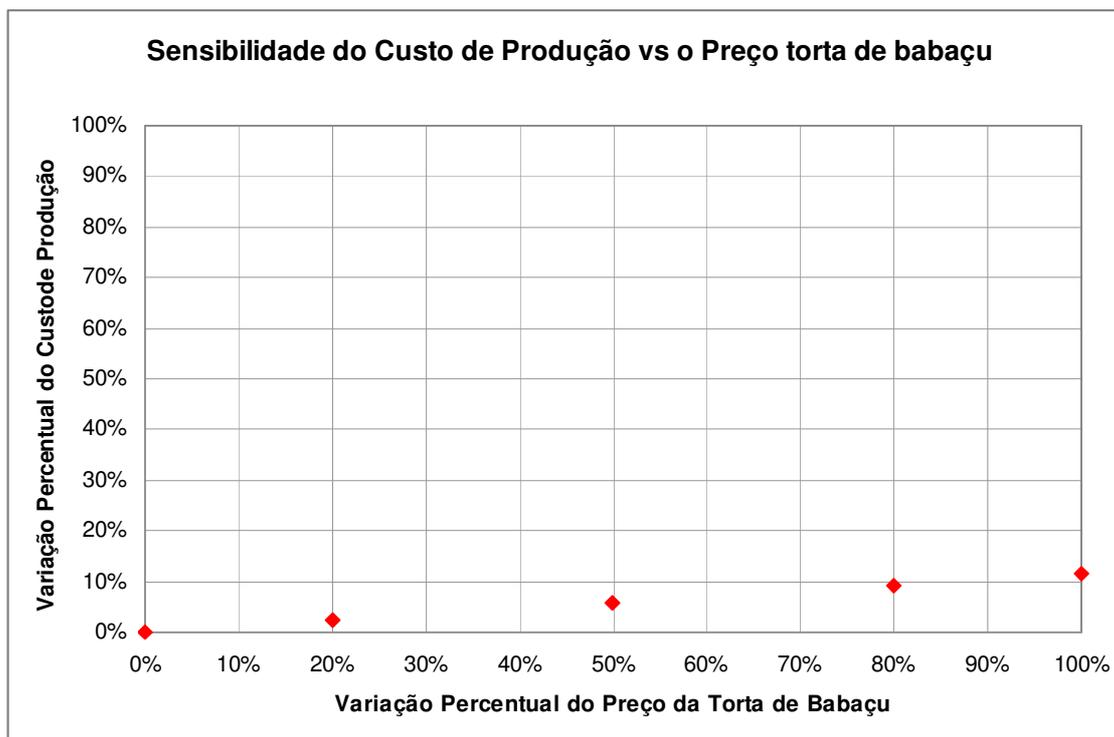


Figura 17 - Gráfico de análise de sensibilidade do custo de produção em relação ao preço da torta em variação percentual do valor base

A análise de sensibilidade do custo de produção do produto em relação ao rendimento da fermentação (em kg de proteínas por batelada) é representada nos gráficos da Figura 18e da Figura 19.

O rendimento da fermentação para a análise de sensibilidade foi definido em relação à geração de proteínas extracelulares na fermentação. Este parâmetro influi significativamente no custo de produção na medida em que é necessário concentrar menos o extrato obtido na fermentação, e, para um produto de mesma concentração de enzimas, consegue-se um maior volume de produto. Assim, para um custo de operação igual é possível obter maiores quantidades de produto, diminuindo o custo por unidade de massa do produto.

Outra influência sobre o preço do produto, não considerada nesta análise de sensibilidade, é a diminuição do custo da operação de ultrafiltração, que, podendo operar com menor fator de concentração, poderia ser projetado para menores diferenças de pressão e, assim, ser significativamente menos custoso.

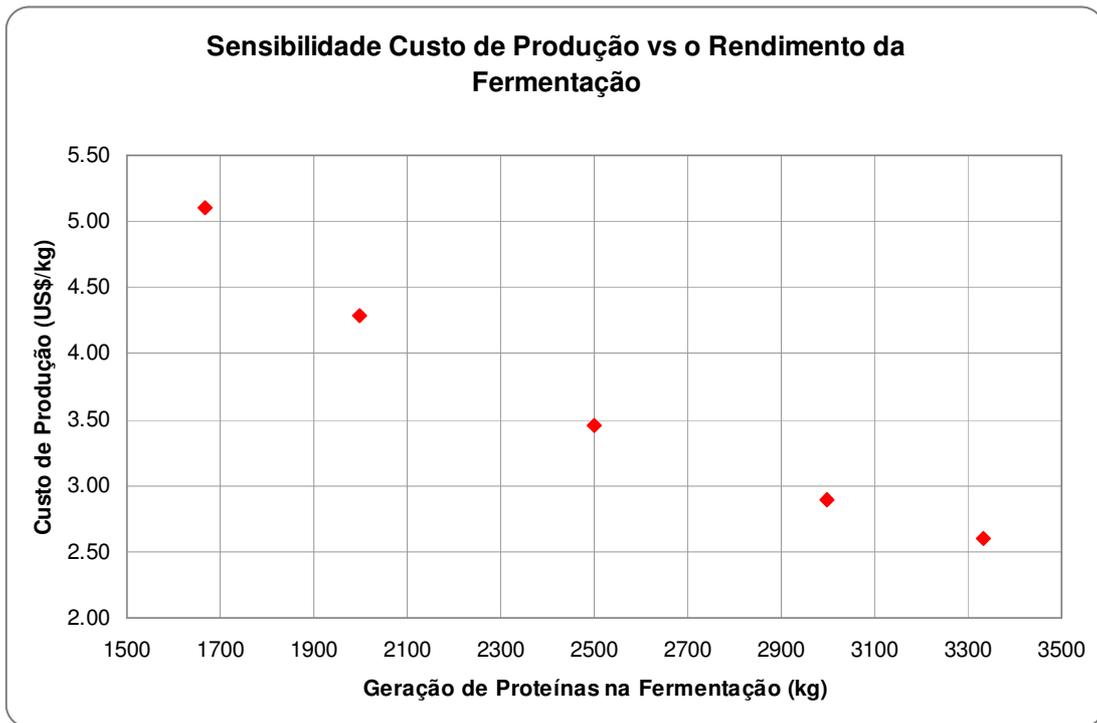


Figura 18 - Gráfico de análise de sensibilidade do custo de produção em relação ao rendimento da fermentação em valores absolutos

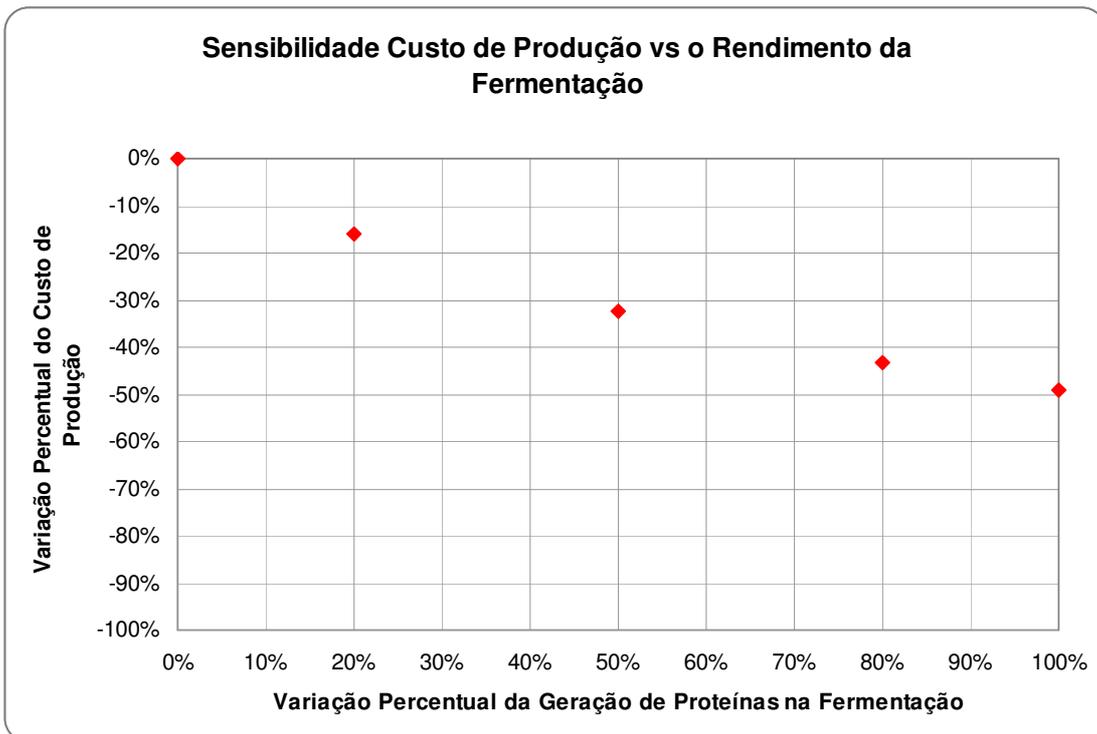


Figura 19 - Gráfico de análise de sensibilidade do custo de produção em relação rendimento da fermentação em variação percentual do valor base

Considerando somente o fenômeno do aumento da produção em decorrência do aumento da quantidade de produto, nota-se uma forte influência deste parâmetro sobre o custo da produção. O caso de maior variação estudada para o rendimento da

fermentação (100%) resulta em um decréscimo no custo de produção de aproximadamente 50%, colocando este custo em US\$ 2,60.

Nota-se que o rendimento da fermentação foi um fator com grande influência sobre o custo de produção, sendo um fator crucial para a otimização do processo conforme sugerido em outros momentos anteriormente.

Capítulo VI. Conclusão

Conclui-se que o processo de produção de glucoamilase a partir da torta de amêndoa de babaçu, como descrito neste trabalho, é viável do ponto de vista econômico e atrativo para investidores.

A análise econômica apresentada demonstra bons indicativos econômicos para a produção de amilases em larga escala a nível competitivo no Brasil. Ao lograr sucesso, este empreendimento passaria a abastecer o mercado interno do Brasil e o mercado externo com enzimas competitivas em relação ao seu preço, incentivando o desenvolvimento de outras indústrias com operações biotecnológicas, contribuindo para a implementação de outras unidades que tenham processos dependentes da hidrólise do amido.

Assim, pode-se apontar que o investimento no empreendimento descrito poderia contribuir para o avanço do parque industrial biotecnológico do Brasil em direção ao conceito de biorrefinaria, ao fazer uso de um rejeito agroindustrial para produção de um catalisador de reações comumente utilizados em conversão de polissacarídeos em glicose. Os monossacarídeos, principalmente a glicose, podem ser encarados como peça fundamental de diversos bioprocessos (fermentativos ou enzimáticos), a partir dos quais podem ser produzidos incontáveis produtos da biotecnologia.

Mesmo obtendo resultado positivo para a análise econômica, alguns pontos centrais para a instalação da unidade ainda aparecem como desafios: a pequena oferta de mão-de-obra especializada na indústria de processos biotecnológicos no Brasil, a falta de experiência que os grupos investidores brasileiros têm no tema e o pequeno volume de dados com os quais contam os analistas de mercado para prever aumento ou diminuição de volume de vendas, preços, aspectos legais e de regulação.

Considerando que o processo não foi otimizado em relação aos parâmetros de fermentação ou em relação aos gargalos existentes na planta proposta, é bastante significativo que se tenha encontrado resultado positivo para a análise dos parâmetros de lucratividade. Pode-se prever que com estudos focados em ambas as faces, a primeira de cunho experimental e relacionada ao cerne do processo e a segunda intimamente relacionada ao projeto da planta e às restrições de operação, poder-se-á encontrar resultados ainda melhores para a lucratividade.

Neste sentido, sugestões para estudos futuros incluem o estudo e otimização dos parâmetros da fermentação visando seu maior rendimento, que se mostrou um

parâmetro com grande influência na lucratividade da planta, e otimização da etapa de propagação de esporos, que se mostrou um gargalo na planta e uma fonte grande de custos. Outros aspectos que podem ser incluídos na planta do processo são questões como integração energética, reuso de água, tratamento de efluentes e as trocas gasosas.

Capítulo VII. Referências Bibliográficas

ALICE-Web –. Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior via Internet Disponível em alicesweb.desenvolvimento.gov.br/ (acesso em 01/02/2010).

BRADFORD, M.M. **A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.** Analytical Biochemistry. v. 72, p. 248-254. 1976.

BRAND, D. **Fisiologia de crescimento e de esporulação de fungos nematófagos cultivados em meio sólido.** Tese de doutorado, UFPR, Curso de Pós-graduação em Processos Biotecnológicos. Curitiba-PR. 2006.

BRITTON, H. T. S.; ROBINSON, R. A. **Universal buffer solutions and the dissociation constant of veronal.** Journal of chemical society, v. 130, p. 156–162. 1931.

CARDONA, C. A.; SÁNCHEZ, O. J. **Fuel ethanol production: process design trends and integration opportunities.** Bioresource technology, v. 98, p. 2415-2457. 2007.

CASTILHO, L. R.; POLATO, C. M. S.; BARUQUE, E. A.; SANT'ANNA JR., G. L. **Economic analysis of lipase production by *Penicillium restrictum* in solid-state and submerged fermentations.** Biochemical engineering journal, v. 4, p. 239-247. 2000.

CHAUVEL, A.; FOURNIER, G.; RAIMBAULT, C. **Manual of Process Economic Evaluation.** Paris, Editions Technip, 2003.

COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M.; RIBEIRO, B. D. **Tecnologia Enzimática.** 1ª ed. Rio de Janeiro: FAPERJ; Petrópolis, RJ: EPUB, 2008. 288p.

DESER – Departamento de Estudos Sócio-Econômicos Rurais. Disponível em www.deser.org.br (acesso em 10/02/2010).

DURAND, A. **Bioreactor designs for solid state fermentation.** Biochemical engineering journal v. 13, p. 113-125. 2003.

DURAND, A.; CHEREAU, D. **A new pilot reactor for solid-state fermentation: application to the protein enrichment of sugar beet pulp.** *Biotechnology and bioengineering*, v. 31, p. 476-486. 1988.

GIRARD, P.; FALLOT, A. **Review of existing and emerging technologies for the production of biofuels in developing countries.** *Energy for sustainable development*, v. 10 (2), p. 92-108. 2006.

GOMBERT, A. K., LOPES, A.P., CASTILHO, L.R., FREIRE, D.M.G. **Lipase, amylase and protease production by *Penicillium restrictum* in a solid-state fermentation using babassu oil cake.** *Process biochemistry*, v. 35(1-2) p. 85-90. 1999.

GOTTSCHALK, L. M. F.; BON, E. P. S.; NOBREGA, R. **Lignin peroxidases from *Streptomyces viridosporus* T7A: enzyme concentration using ultrafiltration.** *Applied biochemistry and biotechnology*, v. 147, p. 23-32. 2008.

GUTARRA, M. L. E. **Produção de lipase pelo fungo *Penicillium simplicissimum*: caracterização do processo fermentativo e do produto e desenvolvimento de biorreator para fermentação no estado sólido.** Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos – Instituto de Química – UFRJ. 2007.

KWIATKOWSKI, J. R.; MCALOON, A. J.; TAYLOR, F.; JOHNSTON, D. B. **Modeling the process and costs of fuel ethanol production by the corn dry-grind process.** *Industrial crops and products*, v. 23, p. 288-296. 2006.

LIU, Y. **China embarks on million-ton cassava ethanol base in Guangxi.** Worldwatch institute. Disponível em <http://www.worldwatch.org/node/4351> (acesso em 12/02/2010). 2006.

LU, M.Y.; MADDIX, I.S.; BROOKS, J. D. **Citric Acid Production by *Aspergillus Niger* in Solid-Substrate Fermentation.** *Bioresource Technology*. v. 54, p. 235-239. 1995.

van der MAAREL, M.J.E.C.; van der VEEN, B.; UITDEHAAG, J. C. M.; LEEMHUIS, H.; DIJKHUIZEN, L. **Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family.** *Journal of Biotechnology*. v. 94, p. 137-155. 2002.

MIKKELSEN, S. R.; CORTÓN, E. **Bioanalytical Chemistry**. New Jersey: Wiley-Interscience Publishers, 2004.

MORAES, L. M. P. **Processo de obtenção de etanol a partir de matéria-prima amilácea; cepa recombinante de *S. cerevisiae* inoculante e sua utilização**. Pedido de patente no Brasil no. PI 0501816-1 A, em nome de Fundação Universidade de Brasília e Poli Engenharia Ltda. Publicado em 21/02/2007.

NOROUZIAN, D.; AKBARZADEH, A.; SCHARER, J. M.; YOUNG, M. M. **Fungal glucoamylases**. *Biotechnology advances*. v. 24, p. 80-85. 2006.

The Novozymes Report 2009, disponível em www.novozymes.com (acesso em 01/02/2010).

ONG Rede de Tecnologia Social. Disponível em www.rts.org.br (acesso em 01/02/2010).

PANDEY, A. **Solid-state fermentation**. *Biochemical Engineering Journal*. v. 13, p. 81-84. 2003.

PANDEY, A.; SELVAKUMAR, P.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P. **Solid state fermentation for the production of industrial enzymes**. *Current Science*. v. 77(1), p 149-62. 1999.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; MITCHELL, D. **New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products**. *Process Biochemistry*. v. 35: p. 1153-1169. 2000.

PANDEY, A.; WEBB, C.; SOCCOL, C.R.; LARROCHE, C. **Enzyme Technology**. 1ª ed. New Delhi: Asiatech Publishers, Inc. 760 p. 2006.

PERKIS, D.; TYNER, W.; DALE, R. **Economic analysis of a modified dry grind ethanol process with recycle of pretreated and enzymatically hydrolyzed distillers' grains**. *Bioresource Technology*. v. 99, p. 5243-5249. 2008.

PERLINGEIRO, C. A. G. **Engenharia de Processos: análise, simulação, otimização e síntese de processos químicos**. 1ª Ed. São Paulo: Blucher. 2005.

PETERS, M.A.; TIMMERHAUS, K.D. **Plant Design and Economics for Chemical Engineers**. 4ª ed. McGraw-Hill. 910p. 1991.

PETRIDES, D.; KOULOURIS, A.; SILETTI, C.; JIMÉNEZ, J.; LAGONIKOS, P. **The Role of Simulation and Scheduling Tools in the Development and Manufacturing of Active Pharmaceutical Ingredients**. 2009. Disponível em www.intelligen.com (acesso em 12/02/2010).

PRASAD, S.; SINGH, A.; JOSHI, H. C. **Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues**. Resources, conservation and recycling, v. 50, p. 1-39. 2007.

RAGHAVARAO, K. S., M., S.; RANGANATHAN, T. V.; KARANTH, N. G. **Some engineering aspects of solid-state fermentation**. Biochemical Engineering Journal. v. 13, p. 127-135. 2003.

RAMÍREZ, E. C.; JOHNSTON, D. B.; MCALOON, A. J.; SINGH, V. **Enzymatic corn wet milling: engineering process and cost model**. Biotechnology for biofuels, 2:2, p 1-9. 2009.

REGULAPATI, R.; MALAV, P. M.; GUMMADI, S. N. **Production of thermostable α -amylases by solid state fermentation – a review**. American journal of food technology, v. 2 (1), p. 1-11. 2007.

RFA – **Renewable fuels association**. Disponível em <http://www.ethanolrfa.org> (acesso em 12/02/2010). 2010.

RIAZ, M.; PERVEEN, R.; JAVED, M. R.; NADEEM, H.; RASHID, M. H. **Kinetic and thermodynamic properties of novel glucoamylase from *Humicola* sp.** Enzyme and Microbial Technology, v. 41 (5), p. 558-564. 2007.

RUEGGER, M. J. S.; TAUK-TORNISIELO, S. M. **Atividade da celulase de fungos isolados do solo da estação ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil**. Revista Brasileira de Botânica. v.27, n. 2, p.205-211. 2004.

SANTOS, S. F. M. **Estudo da produção de pectinase por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato**. Tese de doutorado, UFRN, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química. Natal-RN. 151 f. 2007.

SIDRA – Sistema IBGE de Recuperação Automática. Disponível em www.sidra.ibge.gov.br/ (acesso em 01/02/2010).

SILVA, A. G. M. S.; BORGES, I.; NEIVA, J. N.; RODRIGUEZ, N. M.; SALIBA, E. O. S.; MORAIS, S. A.; SILVA, J. J.; MERLO, F. A.; SOUSA, T. A. S.; JUNIOR, L. L. M. **Degradabilidade *in situ* da torta de babaçu – matéria seca e proteína**. V Congresso Nordeste de Produção Animal. 2008.

SINGHANIA, R. R.; PATEL, A. K.; SOCCOL, R. C.; PANDEY, A. **Recent advances in solid-state fermentation**. Biochemical Engineering Journal. v. 44, p. 13-18. 2009.

SOCCOL, R. C.; VANDENBERGHE, L. P. S. **Overview of applied solid-state fermentation in Brazil**. Biochemical Engineering Journal. v. 13, p. 205-218. 2003

SOUZA, A. F. B. C; **Avaliação do processo de hidrólise e fermentativo de biomassa de batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] por meio de células imobilizadas para produção de etanol**. Tese de mestrado, Universidade Federal de Tocantins, Palmas-TO. 2005.

TEIXEIRA, M.A. **Biomassa de babaçu no Brasil**. Anais do Congresso Internacional sobre Geração Distribuída e Energia no Meio Rural, 2002.

WOOLEY, R.; RUTH, M.; GLASSNER, D.; SHEEHAN, J. **Process design and costing of bioethanol technology: a tool for determining the status and direction of research and development**. Biotechnology Progress, v. 15, p. 794–803. 1999.

XUE, M.; LIU, D.; ZHANG, H.; QI, H.; LEI, Z. **A pilot process of solid state fermentation from sugar beet pulp for the production of microbial protein**, Journal of fermentation and bioengineering, v. 73, p. 203–205. 1992.

ZHUANG, J. **Economic analysis of cellulose production methods for bio-ethanol: comparison of liquid versus solid state cultivation approaches using SuperPro Designer**. Projeto submetido ao Intelligen's international process design contest, 2006.

Capítulo VIII. Anexo A1 – Comercialização de Amilases

Tabela 26 – Volume financeiro anual de Importações de α -amilases de *A. oryzae* por país

Unidade:		Ano					
Milhares de dólares		1999	2000	2001	2002	2003	2004
País	Alemanha	35.441	32.627	79.628	35.228	105.534	135.515
	Argentina	283	2.596	0	2.045	20.525	10.676
	Bélgica	62.872	103.737	40.474	81.878	485.439	1.027.848
	Dinamarca	2.994.210	1.926.137	1.914.954	2.355.811	1.000.908	1.528.110
	Espanha	0	0	33.939	14.251	0	0
	EUA	449.715	181.944	37.893	181.636	59.510	260.669
	Finlândia	61.834	15.914	19.940	19.675	40.387	30.520
	França	27.860	0	124.300	195.832	608.210	909.215
	Índia	0	0	1.913	0	0	0
	Irlanda	4.614	464	365	2.805	466	0
	Itália	14.626	10.745	5.777	7.316	0	0
	Japão	0	0	0	0	11.998	107.417
	México	0	0	0	0	0	0
	Países Baixos	816.085	412.659	335.318	257.207	527.755	225.237
	Peru	0	0	2.940	0	0	0
	Reino Unido	1.570	0	16.048	0	0	0
	Suíça	63	34	88	308.044	127.348	10.939
Total		4.469.173	2.686.857	2.613.577	3.461.728	2.988.080	4.246.146
		Ano					
		2005	2006	2007	2008	2009	
País	Alemanha	155.280	302.280	182.827	250.591	176.936	
	Argentina	188.235	614.847	527.109	0	0	
	Bélgica	264.108	88.821	26.060	26.843	740	
	Dinamarca	798.356	132.952	172.119	454.811	334.199	
	Espanha	0	0	0	0	0	
	EUA	48.578	57.321	18.661	10.800	18.963	
	Finlândia	47.549	0	0	0	0	
	França	238.477	20.030	680	0	42.416	
	Índia	0	0	0	0	0	
	Irlanda	0	0	1.644	0	280	
	Itália	0	0	5.000	0	0	
	Japão	192.641	224.538	224.915	303.371	164.178	
	México	0	0	0	7.244	14.244	
	Países Baixos	105.823	106.795	0	0	0	
	Peru	0	0	0	0	0	
	Reino Unido	0	0	0	0	573	
	Suíça	11.664	24	4.451	356	1.540	
Total		2.050.711	1.547.608	1.163.466	1.054.016	754.069	

Tabela 27 – Volume financeiro anual de Exportações de α -amilases de *A. oryzae* por país

Unidade:		Ano					
Milhares de dólares		1999	2000	2001	2002	2003	2004
País	Argentina	604	4.500	48.289	60.576	768	19.145
	Bolívia	2.992	788	60	0	0	0
	Chile	15.000	36.000	48.203	67.626	43.062	33.594
	Colômbia	0	0	0	0	0	1.500
	Dinamarca	0	0	8.587	0	0	0
	Equador	0	0	0	0	0	0
	EUA	0	0	0	0	0	0
	Espanha	0	12.138	10.616	0	0	0
	Guatemala	0	0	0	0	0	93
	Paraguai	197.583	121.695	92.129	59.512	49.800	28.525
	Peru	0	0	0	6.720	0	3.267
	Uruguai	0	0	4.232	2.627	1.250	1.563
	Venezuela	0	0	0	0	0	0
Total		216.179	175.121	212.116	197.061	94.880	87.687
		Ano					
		2005	2006	2007	2008	2009	
País	Argentina	12.381	14.338	72.079	26.871	6.426	
	Bolívia	0	4.706	19.510	14.359	5.210	
	Chile	19.876	7.249	4.868	3.796	3.050	
	Colômbia	5.966	27.563	30.469	36.250	16.189	
	Dinamarca	0	0	0	0	0	
	Equador	3.815	0	0	0	0	
	EUA	0	0	0	0	4.698	
	Espanha	0	0	0	0	0	
	Guatemala	0	0	0	0	0	
	Paraguai	5.544	0	13.591	3.110	15.030	
	Peru	32.329	17.370	83.786	9.989	8.351	
	Uruguai	0	4.350	6.090	11.835	12.725	
	Venezuela	0	0	6.270	0	0	
Total		79.911	75.576	236.663	106.210	71.679	

Tabela 28 – Volume financeiro anual de Importação de outras amilases por país

Unidade:		Ano					
Milhares de dólares		1999	2000	2001	2002	2003	2004
País	Alemanha	228.870	190.609	15.860	188.723	143.442	0
	Antilhas Holandesas	461.697	459.858	0	0	0	0
	Argentina	4.477	750	0	15.081	48.950	0
	Bélgica	33.458	48.467	0	3.615	92.243	0
	Canadá	12.250	0	0	0	0	0
	Chile	1.100	0	0	0	0	0
	China	0	0	0	0	0	0
	Colômbia	0	0	0	0	0	0

	Dinamarca	2.463.056	933.920	85.194	408.915	168.680	2.040	
	Espanha	100.339	47.880	0	0	0	0	
	EUA	189.292	248.374	2.544	510.051	360.722	0	
	Finlândia	63.645	12.480	0	19.489	52.622	0	
	França	140.898	128.509	15.305	153.820	5.627	8.968	
	Índia	0	0	0	0	0	0	
	Irlanda	378.253	243.864	0	277.930	31.520	2.808	
	Itália	31.979	14.475	0	34.216	0	0	
	Japão	0	7.734	0	7.915	96	0	
	Países Baixos	48.205	10.283	2.755	6.167	23.637	0	
	Reino Unido	16.575	26.454	1.299	6.375	2.466	0	
	República Centro-Africana	12.450	4.150	0	0	0	0	
	San Marino	0	0	0	0	0	0	
	África do Sul	0	4.150	0	9.128	8.986	0	
	Suécia	2.172	86	0	0	0	0	
	Suíça	82.574	176.732	213.022	282.272	191.508	70.957	
	Total	4.188.543	2.383.957	124.958	1.643.427	940.994	15.820	
		Ano						
		2005	2006	2007	2008	2009		
País	Alemanha	104.875	195.476	3.206	39.888	38.952		
	Antilhas Holandesas	0	0	0	0	0		
	Argentina	151.819	21.893	17.166	3.416	5.061		
	Bélgica	53.535	81.822	0	75.708	69.213		
	Canadá	0	109	0	300	0		
	Chile	0	0	0	0	0		
	China	95	3.495	7.020	101.042	35.713		
	Colômbia	6.940	0	0	0	0		
	Dinamarca	1.117.268	1.159.829	399.310	2.686.738	672.213		
	Espanha	0	0	0	0	0		
	EUA	579.328	453.915	95.296	1.110.766	358.369		
	Finlândia	4.620	786	0	41.085	45.934		
	França	777	77.263	0	41.338	10.527		
	Índia	0	0	0	0	2.492		
	Irlanda	0	4.422	802	34.806	45.093		
	Itália	19.899	29.029	0	0	28.048		
	Japão	0	0	0	129.740	146.400		
	Países Baixos	0	0	0	0	0		
	Reino Unido	5.860	14.084	0	23.194	35.324		
	República Centro-Africana	0	0	0	0	0		
San Marino	345	0	0	0	0			
África do Sul	22.749	0	0	0	0			
Suécia	0	0	0	0	0			
Suíça	0	640	0	0	6.771			
	Total	2.070.115	2.044.129	524.807	4.290.029	1.495.348		

Tabela 29 – Volume financeiro anual de Exportação de outras amilases por país

	Unidade:	Ano					
	Milhares de dólares	1999	2000	2001	2002	2003	2004
País	Angola	0	0	0	0	0	0
	Argentina	180.825	544.685	431.552	115.629	84.302	124.229
	Bolívia	2.622	1.927	1.925	700	1.288	2.366
	Canadá	0	0	0	0	178	0
	Chile	2.823	23.007	70.159	79.271	28.338	28.271
	Colômbia	2.664	0	0	0	0	15.424
	Costa Rica	0	0	0	0	0	0
	Dinamarca	0	162.121	0	0	96.000	0
	Equador	0	0	96	0	0	3.075
	Espanha	0	0	0	4.935	0	0
	EUA	0	1.415	67.204	753	0	0
	Finlândia	0	0	0	0	0	0
	Guatemala	0	0	0	0	1.617	5.670
	Honduras	12.280	0	0	0	0	0
	Hong Kong	0	0	0	0	0	0
	Itália	0	0	0	0	51.601	0
	Japão	1.102.819	1.647.023	1.671.312	1.603.835	1.054.155	844.454
	Líbia	0	0	0	0	0	0
	México	218.109	0	0	0	0	0
	Nicarágua	0	0	0	0	0	0
	Países Baixos	0	0	0	0	0	0
	Paraguai	0	2.212	65.941	19.884	9.032	11.521
	Peru	120	0	0	15.133	21.428	26.920
	Portugal	0	0	0	0	0	0
	República Dominicana	0	0	0	0	0	3.492
	El Salvador	0	0	38.000	0	0	0
África do Sul	0	0	0	0	156.324	89.864	
Tailândia	0	0	0	0	0	0	
Uruguai	27.408	16.767	13.532	16.929	3.453	6.960	
Venezuela	0	0	0	32.656	24.530	21.104	
Total	1.549.670	2.399.157	2.359.721	1.889.725	1.532.246	1.183.350	
		Ano					
		2005	2006	2007	2008	2009	
País	Angola	7.854	0	0	0	0	
	Argentina	111.078	84.582	322.998	80.656	39.295	
	Bolívia	4.947	13.257	1.156	1.104	10.753	
	Canadá	0	0	0	0	0	
	Chile	36.376	62.147	65.257	21.120	0	
	Colômbia	4.320	103	0	60.120	0	

Costa Rica	0	0	295	0	0	
Dinamarca	0	0	616.880	0	0	
Equador	7.643	6.660	17.818	2.879	0	
Espanha	0	0	0	0	0	
EUA	18.880	0	1.906.032	1.833.181	0	
Finlândia	2.010	0	0	0	0	
Guatemala	0	98	0	0	0	
Honduras	0	2.713	0	0	0	
Hong Kong	0	0	0	0	953	
Itália	0	0	0	4.422	0	
Japão	1.568.891	1.398.029	1.895.160	3.150.201	2.509.256	
Líbia	144	0	0	0	0	
México	23.254	103.940	53.486	7.128	0	
Nicarágua	0	7.994	0	0	0	
Países Baixos	0	0	356	0	4.902	
Paraguai	47.799	38.034	111.915	164.932	100.593	
Peru	37.626	26.270	41.882	4.831	6.325	
Portugal	0	0	0	6.063	1.312	
República Dominicana	4.443	886	22.218	0	0	
El Salvador	0	0	0	0	0	
África do Sul	0	166.256	0	0	0	
Tailândia	0	4.122	0	0	0	
Uruguai	8.131	18.161	73.204	117.627	120.396	
Venezuela	24.239	23.015	16.334	0	9.630	
Total	1.907.635	1.956.267	5.144.991	5.454.264	2.803.415	

Tabela 30 - Massa anual de Importações de α -amilases de *A. oryzae* por país

	Unidade:	Ano					
	Kilograma	1999	2000	2001	2002	2003	2004
País	Alemanha	2.793	2.175	5.825	2.140	4.615	6.300
	Argentina	24	598	0	225	3.150	2.278
	Bélgica	6.082	12.788	4.127	3.331	17.456	36.500
	Dinamarca	411.555	218.035	235.360	306.715	125.680	213.675
	Espanha	0	0	36.139	16.012	0	0
	EUA	97.496	26.188	7.777	21.550	1.674	7.195
	Finlândia	13.420	3.600	4.400	3.800	2.620	2.520
	França	1.100	0	9.500	11.011	17.690	40.275
	Índia	0	0	100	0	0	0
	Irlanda	100	50	75	300	100	0
	Itália	2.210	3.125	1.175	2.250	0	0
	Japão	0	0	0	0	625	4.255
	México	0	0	0	0	0	0
	Países Baixos	93.554	57.330	45.135	18.708	12.680	10.425

	Peru	0	0	200	0	0	0	
	Reino Unido	50	0	4.000	0	0	0	
	Suíça	2	2	0	17.160	6.200	3.001	
	Total	4.469.173	628.386	323.891	353.813	403.202	326.424	
		Ano						
		2005	2006	2007	2008	2009		
País	Alemanha	8500	16000	7940	10912	7735		
	Argentina	40950	110925	102600	0	0		
	Bélgica	10375	3445	1425	775	25		
	Dinamarca	104110	20100	16870	72500	22926		
	Espanha	0	0	0	0	0		
	EUA	3310	8244	250	106	183		
	Finlândia	4320	0	0				
	França	5110	1225	24	0	5360		
	Índia	0	0	0	0	0		
	Irlanda	0	0	100	0	20		
	Itália	0	0	100	0	0		
	Japão	8017	4073	3038	4040	2031		
	México	0	0	0	1000	2000		
	Países Baixos	18000	18000	0	0	0		
	Peru	0	0	0	0	0		
	Reino Unido	0	0	0	0	40		
	Suíça	3240	0	360	0	29		
Total	205932	182012	132707	89333	40349			

Tabela 31 - Massa anual de Exportações de α -amilases de *A. oryzae* por país

	Unidade:	Ano					
	Kilograma	1999	2000	2001	2002	2003	2004
País	Argentina	90	150	8830	17760	370	2180
	Bolívia	510	60	50	0	0	0
	Chile	1500	3600	16730	14380	5680	3835
	Colômbia	0	0	0	0	0	1000
	Dinamarca	0	0	775	0	0	0
	Equador	0	0	0	0	0	0
	EUA	0	0	0	0	0	0
	Espanha	0	200	200	0	0	0
	Guatemala	0	0	0	0	0	50
	Paraguai	11270	7450	7770	5725	5325	4300
	Peru	0	0	0	400	0	1980
	Uruguai	0	0	1272	295	100	125
	Venezuela	0	0	0	0	0	0
Total	216.179	13370	11460	35627	38560	11475	
		Ano					

		2005	2006	2007	2008	2009	
País	Argentina	3685	4915	20700	9400	2100	
	Bolívia	0	395	1650	1175	425	
	Chile	2540	1370	1600	1200	950	
	Colômbia	3700	20130	17350	18925	8200	
	Dinamarca	0	0	0	0	0	
	Equador	270	0	0	0	0	
	EUA	0	0	0	0	200	
	Espanha	0	0	0	0	0	
	Guatemala	0	0	0	0	0	
	Paraguai	775	0	2550	1000	1500	
	Peru	2325	4225	6575	2545	1825	
	Uruguai	0	1500	2100	3500	3500	
	Venezuela	0	0	3300	0	0	
Total		13295	32535	55825	37745	18700	

Tabela 32 – Massa anual de Importação de outras amilases por país

	Unidade:	Ano					
	Kilograma	1999	2000	2001	2002	2003	2004
País	Alemanha	12500	8415	1849	10651	9148	0
	Antilhas Holandesas	20	16	0	0	0	0
	Argentina	1125	100	0	1062	4965	0
	Bélgica	20079	12366	0	449	23192	0
	Canadá	114	0	0	0	0	0
	Chile	3	0	0	0	0	0
	China	0	0	0	0	0	0
	Colômbia	0	0	0	0	0	0
	Dinamarca	534061	193249	21241	62875	41161	250
	Espanha	20500	10200	0	0	0	0
	EUA	33279	68115	54	62954	39737	0
	Finlândia	5200	960	0	1440	4200	0
	França	2001	2150	600	4126	1025	400
	Índia	0	0	0	0	0	0
	Irlanda	11931	27963	0	44751	2380	234
	Itália	206	650	0	3150	0	0
	Japão	0	50	0	120	0	0
	Países Baixos	3030	715	200	255	8313	0
	Reino Unido	1360	1025	30	130	50	0
	República Centro-Africana	3	1	0	0	0	0
San Marino	0	0	0	0	0	0	
África do Sul	0	1	0	2	2	0	
Suécia	25	3	0	0	0	0	
Suíça	8724	31880	13835	14740	4270	5767	
Total		654161	357859	37809	206705	138443	6651
		Ano					

		2005	2006	2007	2008	2009	
País	Alemanha	1761	7348	113	583	553	
	Antilhas Holandesas	0	0	0	0	0	
	Argentina	85625	8750	5360	660	725	
	Bélgica	17100	5700	0	5186	3171	
	Canadá	0	0	0	0	0	
	Chile	0	0	0	0	0	
	China	0	300	2250	21850	9117	
	Colômbia	740	0	0	0	0	
	Dinamarca	79221	146821	41664	327787	116160	
	Espanha	0	0	0	0	0	
	EUA	71772	49761	13975	264348	116744	
	Finlândia	400	75	0	2840	4460	
	França	1	3402	0	1700	350	
	Índia	0	0	0	0	14	
	Irlanda	0	317	58	1992	2463	
	Itália	2029	2342	0	0	12410	
	Japão	0	0	0	690	800	
	Países Baixos	0	0	0	0	0	
	Reino Unido	55	301	0	1362	2022	
	República Centro-Africana	0	0	0	0	0	
	San Marino	60	0	0	0	0	
África do Sul	5	0	0	0	0		
Suécia	0	0	0	0	0		
Suíça	0	56	0	0	30		
Total		258769	225173	63420	628998	269019	

Tabela 33 - Massa anual de Exportação de outras amilases por país

	Unidade:	Ano					
	Kilograma	1999	2000	2001	2002	2003	2004
País	Angola	0	0	0	0	0	0
	Argentina	55345	147900	149523	43361	29495	32547
	Bolívia	1127	530	870	200	200	480
	Canadá	0	0	0	0	0	0
	Chile	630	6910	20390	33110	9293	8308
	Colômbia	600	0	0	0	0	5776
	Costa Rica	0	0	0	0	0	0
	Dinamarca	0	21220	0	0	40000	0
	Equador	0	0	100	0	0	960
	Espanha	0	0	0	500	0	0
	EUA	0	190	12870	75	0	0
	Finlândia	0	0	0	0	0	0
	Guatemala	0	0	0	0	510	1800
	Honduras	2000	0	0	0	0	0
	Hong Kong	0	0	0	0	0	0

	Itália	0	0	0	0	73	0	
	Japão	1461	2467	2870	2507	1652	1464	
	Líbia	0	0	0	0	0	0	
	México	34240	0	0	0	0	0	
	Nicarágua	0	0	0	0	0	0	
	Países Baixos	0	0	0	0	0	0	
	Paraguai	0	800	7820	3150	2265	3600	
	Peru	16	0	0	3200	5558	6420	
	Portugal	0	0	0	0	0	0	
	República Dominicana	0	0	0	0	0	1	
	El Salvador	0	0	7600	0	0	0	
	África do Sul	0	0	0	0	251	243	
	Tailândia	0	0	0	0	0	0	
	Uruguai	7060	4460	6799	5799	900	1462	
	Venezuela	0	0	0	6975	5175	1876	
	Total	102479	184477	208842	98877	95372	64937	
		Ano						
		2005	2006	2007	2008	2009		
País	Angola	35	0	0	0	0		
	Argentina	25945	14713	45535	22657	7560		
	Bolívia	1080	2220	240	210	7761		
	Canadá	0	0	0	0	0		
	Chile	4399	6084	13011	3510	0		
	Colômbia	1600	20	0	9233	0		
	Costa Rica	0	0	500	0	0		
	Dinamarca	0	0	64000	0	0		
	Equador	1947	622	490	540	0		
	Espanha	0	0	0	0	0		
	EUA	3200	0	203600	185348	0		
	Finlândia	560	0	0	0	0		
	Guatemala	0	30	0	0	0		
	Honduras	0	390	0	0	0		
	Hong Kong	0	0	0	0	50		
	Itália	0	0	0	1200	0		
	Japão	2032	1347	2637	2646	2167		
	Líbia	18	0	0	0	0		
	México	2030	42	2472	2106	0		
	Nicarágua	0	1732	0	0	0		
Países Baixos	0	0	120	0	284			
Paraguai	10132	6927	10845	24801	14730			
Peru	8673	6190	3505	425	250			
Portugal	0	0	0	2307	400			
República Dominicana	1410	270	4175	0	0			
El Salvador	0	0	0	0	0			
África do Sul	0	181	0	0	0			

	Tailândia	0	5	0	0	0	
	Uruguai	1508	2880	3625	6924	13555	
	Venezuela	132	631	6	0	900	
	Total	64701	44284	354761	261907	47657	

Capítulo IX. Anexo A2 – Balanços de Massa

Tabela 34 – Balanços de Massa

Estimativa da capacidade anual da planta	Valor	Unidade	Fonte
Colheita de amêndoas de babaçu no Centro maranhense	44785	ton	SIDRA - IBGE de 2008; escolha de uma região com alta produção
Percentual de torta gerada por amêndoa	34%		DESER, 2007
Faixa granulométrica utilizada	100%		utilizado em laboratório
Potencial de uso da torta na faixa avaliada	15226,9	ton	
Porcentagem aproveitada	80%		para amenizar efeitos de variação na produção
Valor a ser simulado na planta	12181,52	ton	
Estimativa da capacidade da planta por batelada	Valor	Unidade	Fonte
Dias de operação por ano	330	dias/ano	estimativa com base no default do programa
Duração de uma batelada	6	dias	estimativa: 96h de fermentação + 1 dia limpeza/carga/descarga fermentador
Bateladas por ano	55	bateladas/ano	
Quantidade de torta por batelada	221482	kg/batelada	
Dados da Escala de Bancada	Valor	Unidade	Fonte
- Propagação			
Composição do meio de propagação			
- Agar-agar	20	g/L	RUEGGER e TAU-K-TORNISIELO, 2004
- Amido	10	g/L	
- NaNO ₃	3	g/L	
- MgSO ₄	0,5	g/L	
- KCl	0,5	g/L	
- FeSO ₄ .7H ₂ O	0,003	g/L	
- KH ₂ PO ₄	1	g/L	
Quantidade de meio utilizada em cada placa	20	mL	
Quantidade de esporos inoculada no meio de propagação	1,25E+09	esporos/L meio	estimado com base em 0.5mL de suspensão por placa
Proporção de suspensão inoculada na propagação	0,03	mL susp/mL meio	
Concentração da suspensão de esporos inoculada	5,00E+10	esporos/mL susp	
Quantidade de água utilizada na ressuspensão dos esporos	16	mL/placa	determinado experimentalmente para esgotamento de uma placa
Proporção de água utilizada na ressuspensão dos esporos	0,8	L água/L meio	
Concentração da suspensão de esporos após a ressuspensão	7,70E+11	esporos/L	pela contagem da câmara de Neubauer
Quantidade de esporos ao final da propagação	3,85E+10	esporos/L meio	determinado experimentalmente
- Fermentação			
Teor de umidade da torta moída	6%		determinado experimentalmente
Massa de torta seca por becher	2,5	g	
Quantidade de esporos inoculada na torta	1,00E+10	esporos/kg	

		torta	
Quantidade de esporos por becher	2,50E+07		
Quantidade de água que deve ser adicionada por becher	5,83	mL	calculada para completar 70% de umidade
Quantidade de água por kg de torta	2,33	L/kg torta	
Volume adicionado à suspensão de esporos para completar a umidade	2,13	L/kg torta	
Perdas evaporativas durante a fermentação	1,108	L água/kg torta	determinado experimentalmente??
- Extração			
Volume de água para extração	10	L água/kg torta	utilizado experimentalmente
Volume de água recuperado	6	L água/kg torta	determinado experimentalmente
Atividade glucoamilásica após 96h de fermentação	42619	U/kg torta	determinado experimentalmente para 96h de fermentação
Teor de proteínas no extrato	8	mg PTN/g torta	determinado para 96h de fermentação
Atividade específica glucoamilásica	5327,375	U/g PTN	
Balço de Massa para a Escala da Planta	Valor	Unidade	Fonte
- Seção de Sólidos			
Quantidade de torta por batelada	221482,18 2	kg	
Quantidade de torta seca por batelada	208193,25 1	kg	
Quantidade de água na corrente de torta	13288,931	kg	em larga escala, não haverá etapa de secagem da torta
- Propagação			
Volume de Meio de Propagação	54076,169	L	
Composição da Corrente de Meio:			
- Agar-agar	1081,523	kg	
- Amido	540,762	kg	
- NaNO3	162,229	kg	
- MgSO4	27,038	kg	
- KCl	27,038	kg	
- FeSO4.7H2O	0,162	kg	
- KH2PO4	54,076	kg	
- Água	50751,671	kg	calculada pelo SuperPro Designer
Volume de suspensão de esporos inoculada na propagação	1351,904	L	
Massa de esporos inoculada na propagação	1,352	kg	admitindo concentração de 1g/L de esporos
Massa de água na corrente de suspensão inoculada	1343,464	kg	calculada pelo SuperPro Designer
Massa de esporos ao final da propagação	41,639	kg	
Massa de esporos aumentada durante a propagação	40,287	kg	
Massa Consumida durante a Propagação:			
- Agar-agar	-		
- Amido	26,852	kg	Considerando proporções iguais de consumo
- NaNO3	8,056	kg	
- MgSO4	1,343	kg	
- KCl	1,343	kg	
- FeSO4.7H2O	0,008	kg	
- KH2PO4	2,685	kg	

Volume de água para ressuspensão dos esporos	43260,935	L	
Massa de água para ressuspensão dos esporos	43031,839	kg	calculada pelo SuperPro Designer
Massa de água que sai na corrente de suspensão	44375,304	kg	
% de água que sai na corrente de suspensão	46,65%		
- Fermentação			
Massa de água para umidade de 70% da torta	485784,25 2	kg	
Massa de água que deve ser adicionada à suspensão de esporos	428120,01 8	kg	
Massa de proteínas produzidas na fermentação	1665,546	kg PTN	
- Extração			
Volume de água para extração	2081932,5 09	L	
Fração recuperada após centrifugação	100%		considerando igual ao fermentado
Volume recuperado após centrifugação	2081932,5 09	L	
Atividade glucoamilásica recuperada na extração	887298816 0,495	U	
Massa de proteínas recuperadas na extração	1665,546	kg PTN	
- Filtração			
Eficiência de remoção de sólidos	100%		considerando o diâmetro dos esporos >> diâmetro dos poros da membrana
Perda de atividade	5%		
Rejeição de torta fermentada	1		considerando o diâmetro dos grãos >> diâmetro dos poros da membrana
Rejeição de biomassa	1		considerando o diâmetro dos esporos >> diâmetro dos poros da membrana
Rejeição de amilase	0,01		menor permitido pelo programa
Massa de extrato recuperada	1263396,9 1	kg	Massa de extrato recuperada
Massa de proteínas no extrato	1503,06	kg	Massa de proteínas no extrato
Atividade do extrato	6,33	U/mL	Atividade do extrato
- Concentração			
Fator de concentração	10		Gottschalk <i>et al.</i> , 2008
Perda de atividade	5%		Superpro
Massa de preparado recuperada	126406,6	kg	
Massa de proteínas no preparado	1503,06	kg	
Atividade do preparado	63,27	U/mL	

Capítulo X. Anexo A3 – Inventário das Correntes

Tabela 35 - Inventário de Correntes

Corrente	S-118	S-122	S-101	S-102
Origem	ENTRADA	P-13	ENTRADA	P-1
Destino	P-13	P-18	P-1	P-2
Propriedades				
Atividade (U/mL)	0	0	0	0
Temperatura (°C)	25	86,02	25	25
Pressão (bar)	1,01	1,01	1,01	1,01
Densidade (g/L)	998,92	977,23	1.455,63	1.455,63
Vazão (kg/batelada)				
Agar	1.081,52	1.058,04	0,00	0,00
Babaçu	0	0	208.193,25	208.193,25
Fosfato de Dipotássio	54,076	52,902	0	0
Sulfato Ferroso	0,054	0,053	0	0
Cloreto de Potássio	27,038	26,451	0	0
Sulfato de Magnésio	27,038	26,451	0	0
Nitrato de Sódio	162,228	158,705	0,00	0,00
Amido	540,761	529,017	0,00	0,00
Água	52.125,24	50.993,19	13.288,93	13.288,93
TOTAL (kg/batelada)	54.017,96	52.844,80	221.482,18	221.482,18
TOTAL (L/batelada)	54.076,17	54.076,17	152.155,18	152.155,18

Corrente	S-121	S-130	S-129	S-124
Origem	P-15	P-19	P-18	ENTRADA
Destino	P-19	SAÍDA	P-12	P-12
Propriedades				
Atividade (U/mL)	63,27	63,27	0	0
Temperatura (°C)	16,56	16,57	35	25
Pressão (bar)	1,01	1,01	1,01	1,01
Densidade (g/L)	998,37	998,37	995,37	994,76
Vazão (kg/batelada)				
Agar	0	0	1.058,04	0
Amilase	1.503,06	1.503,06	0	0
Biomassa	0	0	0	1,352
Fosfato de Dipotássio	0	0	52,902	0
Sulfato Ferroso	0	0	0,053	0
Cloreto de Potássio	0	0	26,451	0
Sulfato de Magnésio	0	0	26,451	0
Nitrato de Sódio	0	0	158,705	0
Amido	0	0	529,017	0
Água	124.903,54	124.903,54	50.993,19	1.343,46
TOTAL (kg/batelada)	126.406,60	126.406,60	52.844,80	1.344,82
TOTAL (L/batelada)	126.612,76	126.613,26	53.090,59	1.351,90

Corrente	S-127	S-108	S-125	S-103
Origem	ENTRADA	P-12	P-12	P-2
Destino	P-12	P-11	SAÍDA	P-3
Propriedades				
Atividade (U/mL)	0	0	0	0

Temperatura (°C)	25	27,79	27,79	25
Pressão (bar)	1,01	1,01	1,01	1,01
Densidade (g/L)	994,7	993,74	997,72	1.455,63
Vazão (kg/batelada)				
Agar	0	0	1.058,04	0
Babaçu	0	0	0	208.193,25
Biomassa	0	41,832	0	0
Fosfato de Dipotássio	0	0	48,848	0
Sulfato Ferroso	0	0	0,053	0
Cloreto de Potássio	0	0	24,431	0
Sulfato de Magnésio	0	0	24,431	0
Nitrato de Sódio	0	0	146,558	0
Proteínas	0	0	20,24	0
Amido	0	0	488,537	0
Água	43.031,84	44.489,40	50.879,09	13.288,93
TOTAL (kg/batelada)	43.031,84	44.531,23	52.690,23	221.482,18
TOTAL (L/batelada)	43.260,94	44.811,87	52.810,58	152.155,18

Corrente	S-104	S-105	S-106	S-109
Origem	P-3	P-4	P-5	P-6
Destino	P-4	P-5	P-6	SAÍDA
Propriedades				
Atividade (U/mL)	0	0	0	0
Temperatura (°C)	25	25	25	20
Pressão (bar)	1,01	1,01	1,01	1,01
Densidade (g/L)	1455,63	1455,63	1.455,63	1,26
Vazão (kg/batelada)				
Babaçu	208.193,25	208.193,25	208.193,25	0,00
Nitrogen	0	0	0,00	76,50
Oxygen	0	0	0	23,223
Água	13288,931	13288,931	13288,931	4,732
TOTAL (kg/batelada)	221482,182	221482,182	221482,182	104,452
TOTAL (L/batelada)	152155,18	152155,18	152155,18	83133,816

Corrente	S-107	S-111	S-110	S-113
Origem	P-6	P-9	P-11	P-10
Destino	P-9	P-10	P-10	P-16
Propriedades				
Atividade (U/mL)	0	0	0	12,91
Temperatura (°C)	30	30	29,79	29,85
Pressão (bar)	1,01	1,01	1,01	1,01
Densidade (g/L)	1455,4	1455,4	992,96	1.009,39
Vazão (kg/batelada)				
Amilase	0	0	0	1.665,55
Babaçu	208.193,25	208.193,25	0	0
Biomassa	0	0	41,832	41,832
Torta Fermentada	0	0	0	206.527,70
Água	13.288,93	13.288,93	472.609,42	485.898,35
TOTAL (kg/batelada)	221.482,18	221.482,18	472.651,25	694.133,43
TOTAL (L/batelada)	152.179,70	152.179,70	476.001,11	687.674,38

Corrente	S-115	S-126	S-119	S-117
----------	-------	-------	-------	-------

Origem	ENTRADA	P-16	ENTRADA	P-7
Destino	P-11	P-7	P-7	P-17
Propriedades				
Atividade (U/mL)	0	12,91	0	3,2
Temperatura (°C)	30	29,85	30	37,05
Pressão (bar)	1,01	1,01	1,01	1,01
Densidade (g/L)	992,88	1009,39	992,88	994,58
Vazão (kg/batelada)				
Amilase	0	1.665,55	0	1.665,55
Biomassa	0	41,832	0	41,832
Torta Fermentada	0	206.527,70	0	206.527,70
Água	428.120,02	485.898,35	2.067.112,95	2.553.011,30
TOTAL (kg/batelada)	428.120,02	694.133,43	2.067.112,95	2.761.246,38
TOTAL (L/batelada)	431.189,30	687.674,38	2.081.932,51	2.776.302,26

Corrente	S-128	S-112	S-114	S-116
Origem	P-17	P-8	P-8	P-14
Destino	P-8	P-14	SAÍDA	P-15
Propriedades				
Atividade (U/mL)	3,22	6,31	0	6,33
Temperatura (°C)	15	15	15	15,78
Pressão (bar)	1,01	1,01	1,01	1,01
Densidade (g/L)	1002,07	998,55	1.005,73	998,12
Vazão (kg/batelada)				
Amilase	1.665,55	1.665,38	0,167	1.503,06
Biomassa	41,832	8,366	33,466	0
Torta Fermentada	206.527,70	4.130,55	202.397,15	0
Água	2.553.011,30	1.398.173,41	1.154.837,89	1.261.893,85
TOTAL (kg/batelada)	2.761.246,38	1.403.977,71	1.357.268,67	1.263.396,91
TOTAL (L/batelada)	2.755.551,59	1.406.013,06	1.349.538,53	1.265.771,78

Corrente	S-120	S-123
Origem	P-14	P-15
Destino	SAÍDA	SAÍDA
Propriedades		
Atividade (U/mL)	6,15	0
Temperatura (°C)	15,78	16,56
Pressão (bar)	1,01	1,01
Densidade (g/L)	999,58	997,78
Vazão (kg/batelada)		
Amilase	162,324	0
Biomassa	8,366	0
Torta Fermentada	4.130,55	0
Água	136.279,56	1.136.990,31
TOTAL (kg/batelada)	140.580,80	1.136.990,31
TOTAL (L/batelada)	140.640,19	1.139.518,48