



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

VINÍCIUS DA COSTA SANTOS

**ESTUDO SOBRE A VIABILIDADE TÉCNICA PARA O TRATAMENTO DO
BAGAÇO DE MALTE A PARTIR DE HIDRÓLISE**

BRASÍLIA-DF

2º/2021



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

VINÍCIUS DA COSTA SANTOS

**ESTUDO SOBRE A VIABILIDADE TÉCNICA PARA O TRATAMENTO DO
BAGAÇO DE MALTE A PARTIR DE HIDRÓLISE**

Trabalho de Conclusão 2 de Curso em
Química apresentado ao Instituto de
Química da Universidade de Brasília,
como requisito parcial para a obtenção
do título de bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Grace Ferreira Ghesti

Coorientador: Msc. Rômulo Coriolano Dutra

BRASÍLIA-DF

Setembro/2022

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	9
2.1 Bagaço de malte	9
2.2 Economia Circular.....	9
2.3 Composição das biomassas lignocelulósicas	10
2.3.1 Lignina	11
2.3.2 Celulose.....	11
2.3.3 Hemicelulose	12
2.4 Pré-tratamento.....	13
2.5 Hidrólise.....	14
2.6 Catálise.....	14
2.6.1 Catálise homogênea.....	15
2.6.2 Catálise Heterogênea.....	16
2.7 Planejamento fatorial.....	17
2.8 Álcool de segunda geração.....	19
3. OBJETIVOS.....	21
3.1 Objetivos gerais.....	21
3.2 Objetivos específicos.....	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 Bagaço de malte	22
4.1.1 Celulose comercial	22
4.2 Condições de pré-tratamento via hidrólise ácida	22
4.3 Método de quantificação de glicose	23
4.4 Planejamento estatístico	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
5.1 Bagaço de malte.....	27
5.2 Celulose microcristalino comercial.....	30
5.2.1 Catálise homogênea.....	30
5.2.2 Catálise heterogênea.....	33
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	35
7. REFERÊNCIAS	37

ESTUDO SOBRE A VIABILIDADE TÉCNICA PARA O TRATAMENTO DO BAGAÇO DE MALTE A PARTIR DE HIDROLISE

RESUMO: O crescente aumento do mercado cervejeiro em solo brasileiro faz o questionamento sobre os impactos dos seus produtos, em que, o bagaço de malte é o subproduto da indústria cervejeira de maior porcentagem em massa com alto conteúdo orgânico. Contudo sua destinação, majoritariamente, vai para o descarte em aterros sanitários, responsáveis por uma grande produção de gases poluentes responsáveis pelo aquecimento global, ou para o consumo animal (cervejarias de grande porte). Por conta da sua estrutura, constituída por proteínas e material lignocelulósicos, vias de aproveitamento desse subproduto são estudadas, em que, o objetivo desse estudo foi, a partir de um planejamento fatorial estatístico, definir as melhores condições de hidrólise via catálise homogênea, com H_2SO_4 , e heterogênea, com a resina Dowex®, do bagaço de malte, o qual foi utilizado em sua matéria seca, contudo se realizado pré-tratamento, o rendimento de sua reação seria maior, com isso foi utilizado da celulose microcristalino comercial como substituto. As melhores condições proporcionaram concentrações de glicose de $17,4 \text{ g.L}^{-1}$ para hidrólise via catálise homogênea para o bagaço de malte, realizada sob condições de: 18,75 mg de ácido, 90 minutos de reação e com relação de 1:8 de massa de matéria seca por massa de solução. Para a celulose microcristalino comercial, obteve-se teor de glicose de $28,7 \text{ g.L}^{-1}$ via catálise homogênea, sob condições de: 31,25 mg de H_2SO_4 , 90 minutos e relação mássica 1:6. Via catálise heterogênea da celulose comercial, utilizou-se as condições reacionais dos dois maiores rendimentos via catálise homogênea, obtendo-se o melhor resultado de $11,4 \text{ g.L}^{-1}$ de concentração, sob condições de: 31,25 mg de H_2SO_4 , 90 minutos e relação mássica 1:6. Resultados demonstram-se ser viável tecnologicamente a produção de etanol de 2ª geração a partir do bagaço de malte.

PALAVRAS-CHAVE: Bagaço de malte; Etanol de segunda geração; Catálise; Hidrólise; Bioprodutos.

STUDY ABOUT THE TECHNICAL FEASIBILITY FOR THE TREATMENT OF BREWERS' SPENT GRAIN FROM HYDROLYSIS

ABSTRACT: The grow up of the Brazilian beer market makes questions about the impact of your products, which the brewers' spent grain (BSG) are the subproduct of the brewery industry that it has the most weight percentage with high organic content. Although your destination mostly goes to landfills, responsible to produce polluting gases direct correlation with the global warning, or for the animal consumption (big breweries). Because your structure, constituted for proteins and lignocellulosic material, ways of exploitation are studied, this study objective is finding the better condition of hydrolyses via homogeneous catalysis, H_2SO_4 , and heterogeneous, Dowex® resin, to the BSG, using the statistical factorial design. The BSG was used by your dry form, however, if it was conducted with a pre-treatment, the yield of glucose will increase, for this reason commercial microcrystalline cellulose was used. The better conditions provided glucose concentration of $17,4 \text{ g.L}^{-1}$ to hydrolyses via homogeneous catalyst to the BSG, It was realize with conditions of: 18,75 mg of acidity, 90 minutes of reaction and relationship of 1:8 dry matter mass for solution mass. For the commercial microcrystalline cellulose, it had glucose content of $28,7 \text{ g.L}^{-1}$, under the reaction conditions of: 31,25 mg of H_2SO_4 , 90 minutes and mass relationship of 1:6. Via heterogeneous catalyst of the commercial cellulose, the reaction conditions of the two highest yields were used via homogeneous catalysis, and it has given $11,4 \text{ g.L}^{-1}$ of glucose concentration, under the reaction conditions of: 31,25 mg of H_2SO_4 , 90 minutes and mass relationship of 1:6. The results shows that's viable technologically the production of second generation ethanol from BSG.

KEYWORDS: Brewers' spent grain (BSG); Second generation ethanol; Catalyst; Hydrolyses; Bioproducts.

1. INTRODUÇÃO

A cada ano que passa, o Brasil se consolida ainda mais como uma potência mundial cervejeira, produzindo 14,1 bilhões de litros de cerveja (CERVBrasil, 2017). Atualmente, existem 1549 cervejarias registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Figura 1, órgão responsável por levantar e apresentar os dados sobre a abertura e fechamento de cervejarias, além de discutir os atuais números, e apresentar previsões do mercado cervejeiro no futuro. (MAPA, 2022)

Em comparação a 2020, 200 novas cervejarias foram registradas como abertas em todo o país e 34 encerram o seu registro em 2021, apresentando um saldo positivo de 166 e crescimento de 12,0%, sendo considerado abaixo do cenário menos otimista apresentado pelo anuário de 2020, de 19,9%. A previsão foi feita a partir da média de crescimento dos últimos 20 anos, mostrando o efeito negativo que a pandemia atingiu no mercado cervejeiro, e que deve ser ainda mais grave, pelo fato de que, outras cervejarias encerraram suas atividades e não relataram ao MAPA, só sendo possível a sua contabilização após fiscalização do órgão ou término da validade do registro (10 anos) e não apresentando renovação.

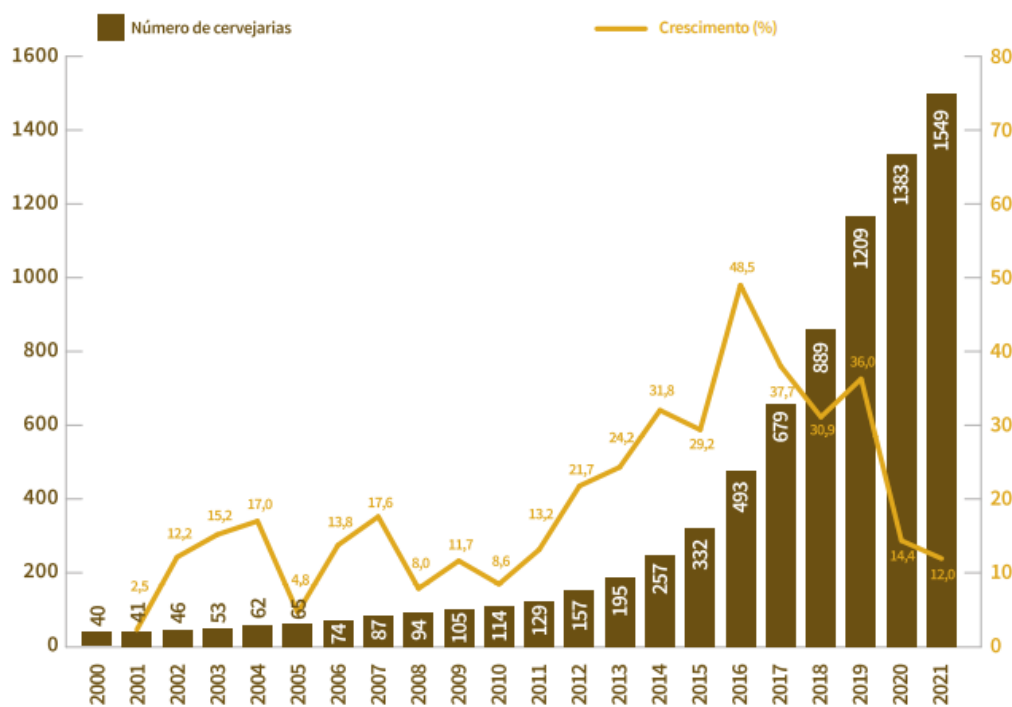


Figura 1: número de cervejarias registradas nos últimos 20 anos e seu respectivo crescimento em comparação ao ano subsequente. Fonte: Anuário da Cerveja No Brasil 2021 (MAPA).

O crescimento do registro de novas cervejarias vem diminuindo cada vez mais, com esse anuário ocupando o 16º lugar da série histórica observada no gráfico. Essa desaceleração ocorre, principalmente, pelo grande crescimento do próprio em todo período observado, de 3678,0%. No

DF, houve crescimento de 54,5% com relação a 2020, com 6 novos registros, totalizando 17 cervejarias, Figura 2.

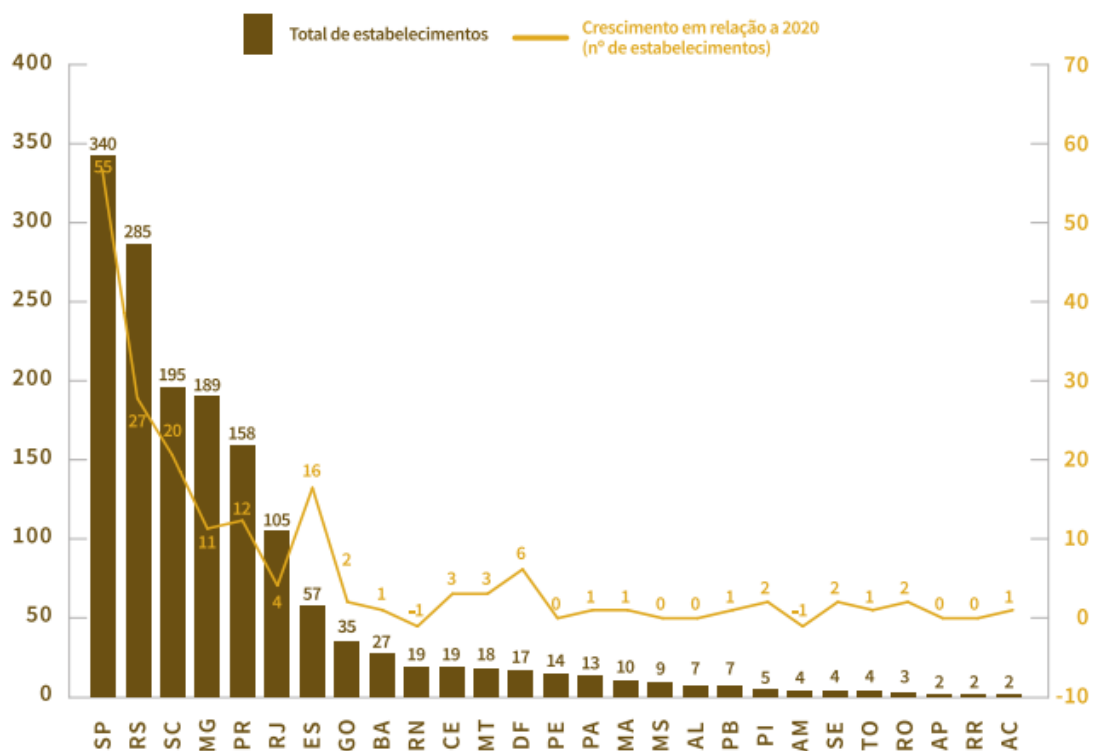


Figura 2: Número de cervejarias por unidade da Federação e Distrito Federal. Fonte: Anuário da Cerveja No Brasil 2021 (MAPA).

Com a sua produção em massa no país, subprodutos, os quais apresentavam pouco valor agregado em pequenas produções, se tornaram mais relevantes, frentes as possíveis fontes de reaproveitamento, podendo dar um retorno financeiro ao produtor, aumentando o interesse por pesquisas voltadas a essa área. De uma forma geral, as grandes cervejarias já apresentam rotas de destinação do bagaço por meio de envio para granjas e laticínios, para uso na alimentação animal. Para as cervejarias menores, há diversas limitações quanto ao descarte do bagaço relacionadas a logística e alternativas. Em torno de 85% de todos os subprodutos da fabricação de cervejas vem do bagaço de malte (MUSSATO, 2006), o qual representa destinações específicas, com 70% destinada a alimentação animal, 10% a produção de biogás e 20% é descartado em aterros sanitários, apresentando um risco ambiental com a emissão de gases estufas, já que a cada uma tonelada de bagaço descartada sem um tratamento adequado, produzem-se em média o equivalente a 514 kg de CO₂ (MITRI *et al.*, 2022).

Durante a fabricação de cerveja, o bagaço é proveniente do mosto cervejeiro, processo pelo qual o malte é adicionado em uma solução de água quente e pH corrigido, com o intuito de sacarificar as moléculas de amido presente, para a posterior fermentação e maturação da cerveja.

Durante todo esse processo, estima-se que a cada 100L de cerveja produzidos, cerca de 20Kg de bagaço são gerados (MUSSATO, 2006), e pela sua composição ser majoritariamente de cascas que revestem a estrutura externa do malte. Estudos mostram que apenas 8,2% da estrutura do bagaço tratado, proveniente de cervejarias artesanais, é composto por açúcares fermentescíveis (JIN *et al.*, 2022). Diante do alto conteúdo de fibras, observa-se seu potencial de reuso para outras áreas, como por exemplo: indústria alimentícia voltada a nutrição animal e humana; produção energética; processos biotecnológicos; indústria de papel, entre outras (MUSSATO, 2006).

O intuito desse estudo é realizar a hidrólise do material que compõe o bagaço de malte por meio de catálise homogênea e heterogênea, caracterizando a solução encontrada e encontrado o teor de glicose para cada ensaio, determinando quais os reagentes mais eficientes para o estudo.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Bagaço de malte

O bagaço de malte é um subproduto de uma das etapas de produção da cerveja. Sua composição é majoritariamente composta de cascas de revestimento da estrutura do malte, podendo acompanhar outros diversos tipos de grão (cevada, trigo, milho, arroz etc.), e vão mudar as suas características a depender do estilo de cerveja a ser produzido, qualidade dos insumos, equipamentos utilizados, dentre outros fatores. Com isso, as características físico-químico do bagaço apresentam uma alta variabilidade de dados, por isso a necessidade de uma análise e comparação com outros estudos disponíveis (MAIONE, 2019). Tabela 1 apresenta diferentes composições do bagaço já relatados na literatura.

Tabela 1: Composição físico-química de componentes específicos do bagaço de malte caracterizado por outros estudos.

Composição (g/100mL %)	Massardi, 2020	Maione, 2019	Mussato, 2005
Celulose	15,99	25,10	16,80
Hemicelulose	29,92	20,93	28,40
Lignina	20,80	20,33	27,80
Proteína	21,16	27,98	15,20

Os valores das composições descritas são alguns dos constituintes que compõe o bagaço, além deles, lipídios, extrativos e cinzas também estão presentes, contudo, elas não apresentaram utilidade nesse estudo. O foco está situado na composição lignocelulósica (lignina, celulose e hemicelulose), onde estão armazenadas as principais fontes de açúcares fermentescíveis, os quais serão responsáveis por dar a viabilidade ao subproduto estudado.

Entretanto, os outros nutrientes não necessitam ser descartados e podem ser transformados em outros produtos com maior valor agregado, como por exemplo para nutrição humana, por conta da presença de proteínas encontradas, entretanto é necessário maiores estudos pela falta de tecnologias especializadas no isolamento do nutriente em específicos (MASSARDI, 2020).

2.2 Economia circular

Com o crescente aumento do mercado cervejeiro em solo nacional, o descarte inapropriado

dos subprodutos começa a criar um alerta sobre possíveis problemas ecológicos, enquanto o bagaço de malte produzido, pode ter outras destinações, as quais podem gerar retornos financeiros ao produtor, os quais podem ser cruciais aos donos de *brewpubs*, micro e nano cervejarias. Uma das destinações possíveis, é a produção de álcool de segunda geração, em que a partir do pré-tratamento do material lignocelulósico presente no bioproduto, extraindo sua celulose para que sofra hidrólise, gerando a glicose, a qual após fermentação, dará como produto o etanol de segunda geração. A depender das condições da fermentação, esse álcool pode ser utilizado na própria fábrica ou estabelecimento nos processos de limpeza, cortando gastos com álcool comercial, ou ser revendido, gerando capital para o produtor. Processo esquematizado na Figura 3:

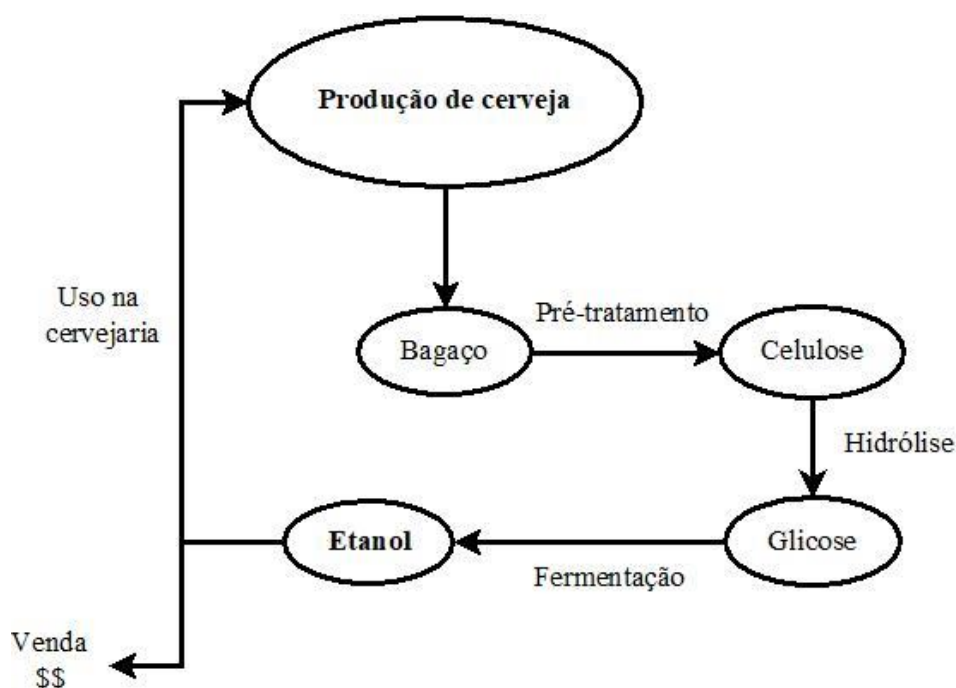


Figura 3: Esquematização da economia circular para o produtor de cervejas.

O estudo em questão tratará sobre a etapa de hidrólise da celulose com o intuito de encontrar resultados sobre o teor de glicose, em que, antes de explicar sobre a hidrólise, é necessário a melhor compreensão do material que compõe o bagaço de malte e sua etapa de pré-tratamento.

2.3 Composição das biomassas lignocelulósicas

A composição química dos compostos lignocelulósicos é responsável pela maior parcela de açúcares disponíveis no bagaço, em que, é necessário compreender suas principais estruturas, lignina, celulose e hemicelulose, pois a forma como estão organizadas e arranjas entre si influenciarão os principais desfechos experimentais desse estudo.

2.3.1 Lignina

A lignina é uma macromolécula derivada de unidades fenilpropanóides, de repetições irregulares, com origem na polimerização desidrogenativa do álcool coniferílico. Trata-se de um dos principais componentes dos tecidos de gimnospermas e angiospermas, com importância no transporte de nutrientes, metabólicos e água, sendo responsável pela resistência mecânica e proteção contra o ataque de microrganismos (SALIBA e RODRIGUEZ, 2001).

A lignina limita o acesso a celulose e hemicelulose por conta do seu caráter protetor, prejudicando ação enzimática necessária para a formação dos açúcares sacarificantes, necessitando um pré-tratamento antes de realizar a hidrólise das biomassas lignocelulósicas (MITRI *et al.*, 2022). A Figura 4 apresenta os constituintes da lignina.

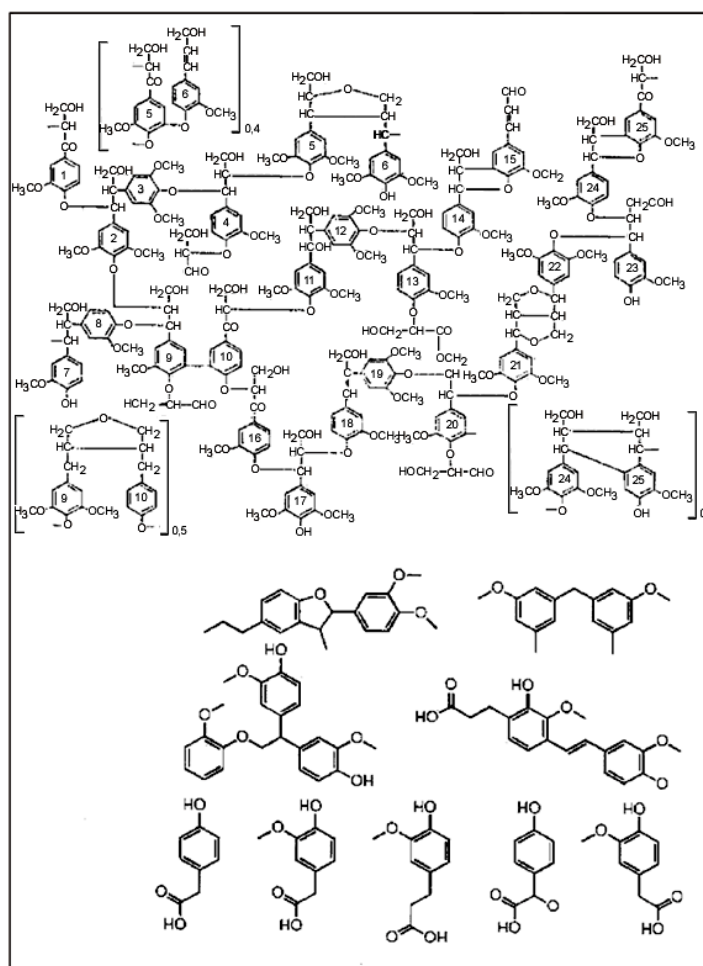


Figura 4: Fragmentos da estrutura da molécula de lignina e composto-modelo utilizados para auxiliar nas atribuições dos sinais de RMN de ¹³C. Fonte: “Ligninas – Método de Obtenção e Caracterização Química (SALIBA e RODRIGUEZ, 2001)

2.3.2 Celulose

A celulose é uma substância encontrada em plantas, mais especificamente em caules, troncos e partes que contenham madeira, apresentando características fibrosas, resistente e insolúvel a água, por conta de suas ligações D-glicose com configuração β. A celulose é um

homopolissacarídeo, similar ao amido, constituído por 10.000 a 15.000 unidades de D-glicose em sua estrutura, se diferenciando do amido devido a sua configuração β , a qual as ligações glicosídicas ($\beta 1 \rightarrow 4$) (Figura 5), fazendo com as moléculas individuais dobrem-se espacialmente de maneira diferente do amido, o qual apresenta ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$), e assim essa diferenciação faz a celulose ser insolúvel a água e o amido ser mais solúvel (NELSON e COX, 2014).

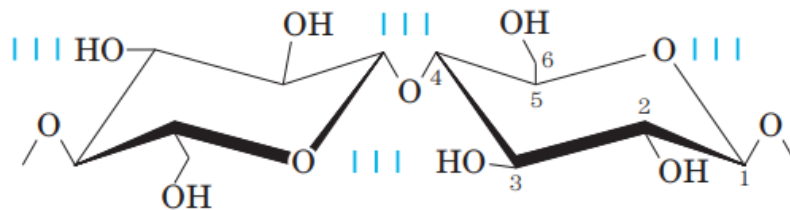


Figura 5: Parte do polissacarídeo que compõe a celulose, representando a ligação ($\beta 1 \rightarrow 4$). Fonte: “Princípios de Bioquímica de Lehninger” 6ª edição (NELSON e COX, 2014).

Por ser um polímero resistente, dificulta a ação de enzimas para a hidrólise das suas ligações e formação de açúcares de menores pesos moleculares, os quais são os necessários para a produção de álcoois. Com isso, é necessária uma fase de pré-tratamento para quebra das ligações responsáveis pela resistência da molécula (MITRI *et al.*, 2022).

2.3.3 Hemicelulose

As hemiceluloses são estruturalmente mais semelhantes à celulose do que a lignina. Sua estrutura apresenta ramificações, as quais interagem com a parede de celulose, dando estabilidade e flexibilidade a ela (Figura 6). As hemiceluloses são heteropolissacarídeos, ou seja, são polímeros composto por várias moléculas com um padrão de repetição, sendo elas a D-glicose, D-galactose, D-manose, D-xilose, L-arabinose, ácido D-glucurônico e ácido 4-O-metilglucurônico (SANTOS, 2012).

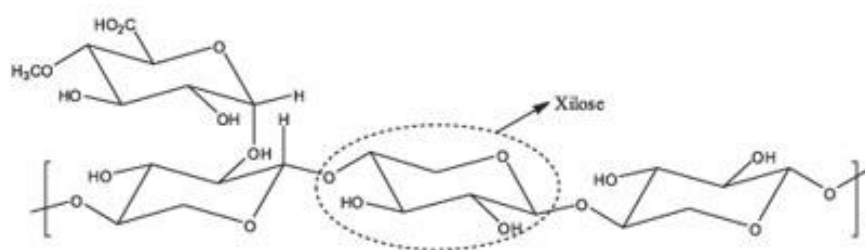


Figura 6: Representação do heteropolissacarídeo Hemicelulose. Fonte: “Potencial da Palha de Cana-de-açúcar para Produção de Etanol” (SANTOS, 2012).

Comparado com a celulose, a hemicelulose é menos polimerizada, apresentando maior acessibilidade aos ácidos mineiras, ou seja, suas moléculas são mais suscetíveis a reação de hidrólise, sem a necessidade de pré-tratamento (SANTOS, 2012).

2.4 Pré-tratamento

O pré-tratamento é a etapa na qual, toda/ou parte da matéria lignocelulósica presente na biomassa vai ser quebrada, facilitando a posterior entrada de enzimas para ocorrer a reação de hidrólise e formação de açúcar fermentescível (glicose), conforme Figura 7. A ruptura da biomassa se dá por métodos de diferentes naturezas, sendo eles: químico, com a adição de ácidos, bases, solventes orgânicos ou líquidos iônicos; físico, com pré-tratamentos mecânicos, hidrotérmico, ultrassônico ou radiação de micro-ondas; biológico, com a adição de microrganismos (fungos ou bactérias); e a combinação entre os métodos apresentados, por exemplo, micro-ondas assistido por pré-tratamento alcalino (MITRI *et al.*, 2022).



Figura 7: Esquema do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica. Fonte: Adaptada de “Valorization of Brewers’ Spent Grains: Pretreatments and Fermentation, a Review” (MITRI *et al.*, 2022)

O pré-tratamento é necessário para a maior eficiência da hidrólise. Segundo Mussato *et al.* (2006), a lignina e a hemicelulose comprometem a ação das enzimas, físico e quimicamente, prevenindo o ataque a celulose do bagaço não tratado, pelo fato que, a lignina adsorve de forma irreversível as enzimas celulases, responsáveis pela hidrólise.

Mussato *et al.* (2007), analisou três condições diferentes contendo o bagaço de malte: sem tratamento; celulignina (pré-tratamento com ácido diluído); polpa de celulose (sequência de pré-tratamentos com ácido diluído e base diluída), em que, o uso de ácido diluído seria responsável pela solubilização da hemicelulose e a base diluída da lignina. Os dados concluíram que, a polpa de celulose apresentou rendimento de glicose após hidrólise de 85,6%, representando um aumento de 280% em comparação com amostra sem tratamento, e aumento de 14,5% da celulignina, mostrando que a hemicelulose apresenta participação negativa na conversão de açúcares fermentescíveis, e por isso também necessita de pré-tratamento. Esses fatos são comprovados ao observar a morfologia do bagaço sem tratamento comparado com a polpa de celulose antes e depois de sofrer hidrólise, em que as fibras de celulose acabam por se desconectar da porção inicial que as protegia, deixando-as expostas, aumentando a área de contato externa e a porosidade, fazendo com que as fibras se tornem mais suscetíveis a ataques enzimáticos.

2.5 Hidrólise

Com o material lignocelulósico tratado, a celulose exposta, os polissacarídeos presentes estão prontos para sofrer hidrólise e despolimerização da sua estrutura, tendo como produto principal a glicose, monômero mais presente na cadeia molecular da celulose. Vários são os fatores que determinarão um processo eficiente de hidrólise, como o tempo, o tipo de ácido, entre outros fatores, e nesse estudo nos restringiremos a hidrólise ácida, a qual será separada um único tópico.

Na hidrólise ácida, esquema reacional apresentado na Figura 8, ocorre fenômenos físicos e químicos, por reações complexas e heterogêneas, para a clivagem das ligações β -1,4 glicosídicas da celulose. Dos métodos de hidrólise mais comuns, via química com a utilização de um ácido ou bioquímica com um complexo enzimático, a vantagem da hidrólise enzimática é o seu maior rendimento da conversão em glicose, de 85% contra 50-60% em condições ideais. As vantagens da hidrólise ácida são o baixo preço, a fácil disponibilidade de reagentes e o tempo de reação, levando 24 horas contra as 48-72 horas da hidrólise enzimática (GRASEL *et al.*, 2017).

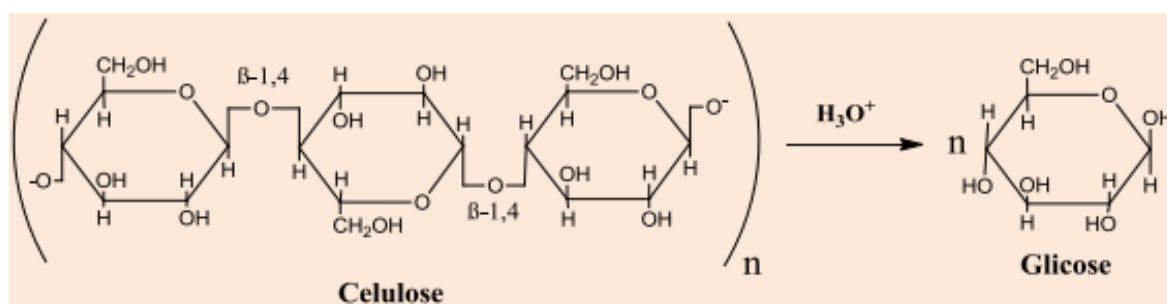


Figura 8: Hidrólise ácida da cadeia de celulose e formação de glicose. Fonte: “Produção de Etanol de Segunda Geração a partir de Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum*) e Bagaço de Cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*)” (GRASEL *et al.*, 2017)

2.6. Catálise

Em “Catálise Heterogênea”, de M. Schmal (2012), o autor classifica as reações catalíticas em homogêneas (uma fase) e heterogêneas (duas ou mais fases), em que, a importância da catálise é demonstrada nas diversas aplicações e estudos publicados na área, por conta da sua natureza de dar maior viabilidade a determinada reação, diminuindo o tempo, e/ou aumentando o rendimento e/ou barateando os custos, sendo explicado por questões termodinâmicas, cinéticas e da mecânica quântica.

No cenário atual, a catálise ambiental se encontra em destaque, no intuito de encontrar maneiras de substituir métodos e reações ultrapassadas utilizadas em indústrias de larga escala.

O intuito é a diminuição dos impactos causados no ambiente a partir da poluição com gases tóxicos e descartes irregulares, ou a criação de novas reações para dar uma nova viabilidade a produtos com menor valor agregado, os quais, em sua grande maioria, são jogados fora. Caso do estudo em questão, em que, a catalise será utilizada como suporte as reações de hidrólise do material lignocelulósico, gerando dados e condições experimentais o suficiente para iniciar as discussões.

A catálise relacionada a hidrólise da celulose com a glicose como produto, ocorre na quebra das ligações β -1,4 glicosídicas presentes no biopolímero, representadas na Figura 9 pelos números 1 e 4 nas ligações da representação do polímero de celulose, processo detalhado no tópico 2.4. Em que, a reação pode ocorrer pelo ataque ácido/base de um líquido iônico na ligação comentada anteriormente (catalise homogênea), ou por um intermediário sólido, ocorrendo a reação na superfície do catalisador, atuando como um intermediário (catalise heterogênea).

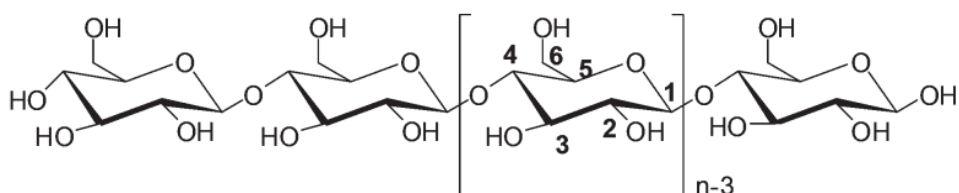


Figura 9: Indicação da molécula de glicose presente no polímero da celulose. Fonte: “Hydrolysis of cellulose to glucose by solid acid catalysts” (HUANG & YAO FU, 2013).

2.6.1. Catálise Homogênea

Os primeiros indícios de catálise da biomassa por reação direta com ácido aconteceram no século 19, tendo as primeiras reações com processos variados, no século 20, com Faith em 1923. Em seu experimento, foi utilizado 0,5% m/m de solução de H_2SO_4 para tratar resíduos de madeira, a $170^\circ C$ e 45 minutos de reação, obtendo açúcar diluído em solução, a qual foi transferida para fermentação, obtendo rendimento de 50,0% de açúcares, de acordo com o rendimento teórico de açúcares fermentáveis (HUANG & YAO FU, 2013).

Atualmente, há maior conhecimento na área de resíduos e na de catalisadores, após estudos utilizando reações com outros ácidos em condições reacionais variadas. Como, por exemplo, Kempka *et al.* (2022), utilizou de ácidos líquidos comerciais e estudou a hidrólise do bagaço de malte em concentrações e tempos diferentes. Foi utilizado o ácido clorídrico, sulfúrico, acético e cítrico, em ordem, respectivamente, do catalisador que apresentaram maior taxa de conversão de açúcares redutores. Além disso, entendeu-se nesse estudo que, a concentração atua de forma negativa, por degradar o produto esperado, em que, quanto maior for sua concentração, menor

conversão. Já o tempo não obteve resultados com diferenças relativas para melhor análise. Resultados desse estudo na Figura 10:

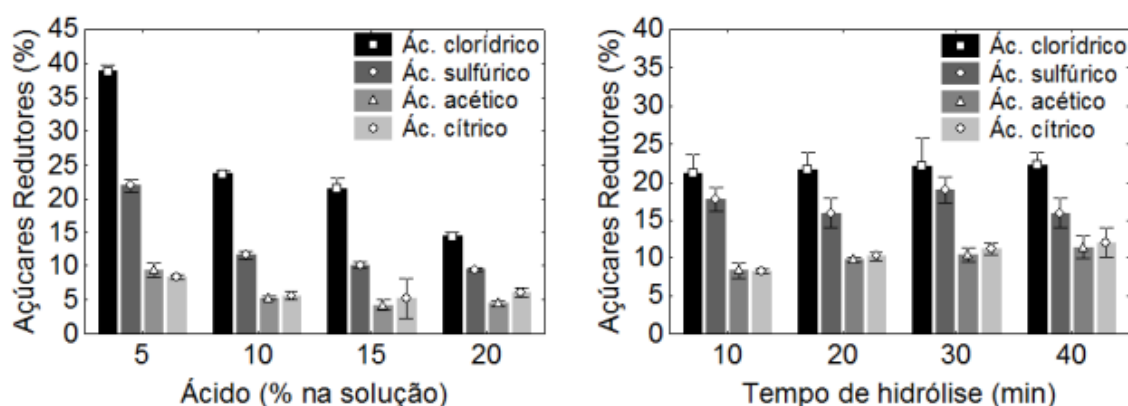


Figura 10: Parâmetros operacionais na hidrólise química em relação ao teor de ácidos (direita) e do tempo de hidrólise (esquerda). Fonte: “Hidrólise Química do Bagaço de Malte: Influência de Diferentes Ácidos e Parâmetros Operacionais” (KEMPKA et al., 2022).

A catalise homogênea com líquidos iônicos se caracteriza pelo seu baixo preço e maior efetividade nas reações, contudo a sua dificuldade em tratar os descartes da reação, separação do produto e catalisador, reaproveitamento do catalisador e problemas com corrosão dos reatores, são fatores a serem levados em conta ao selecionar qual ácido utilizar. (HUANG & YAO FU, 2013).

2.6.2. Catálise Heterogênea

Catalisadores ácidos sólidos (Óxidos metais, Ácidos carbonáceos sulfonados, Heteropoliácidos) são utilizados por meio de catálise heterogênea na hidrólise de biomassa, apresentando vantagens em comparação aos catalisadores líquidos por serem menos agressivos ao meio ambiente e ao reator, fácil separação, podendo ser reutilizado várias vezes (HUANG & YAO FU, 2013). Tian *et al.* (2010), utilizou o heteropoliácido $H_3PW_{12}O_{40}$ em diferentes concentrações e tempos reacionais, reutilizando por 6 reações consecutivas, para avaliar o seu poder catalítico e reuso. Com 0,09 mmol do catalisador em reação com celulose comercial a 180°C por 2 horas, obteve rendimento de 51,9% de glicose, e após 6 reações com o heteropoliácido sendo lavado com dietil éter, o sólido final ainda tinha 8,8% da porção inicial de catalisador em atividade, comprovando o seu potencial para ser reutilizado.

Suganuma *et al.* (2008), utilizou-se da própria celulose (do tipo microcristalino comercial) para ser carbonizada incompletamente a 723K por 5 horas, com o intuito de formar pequenos

anéis de carbono policíclicos e aromáticos, e posterior reação a 353K por 10 horas com ácido sulfúrico, adicionando os grupos sulfônicos (-SO₃H) aos anéis, e assim formando o catalisador ácido. A reação de hidrólise foi realizada em um reator Pirex, a 373K por 3 horas, com celulose microcristalino (marca diferente da celulose utilizada na formação do material carbônico), gerando uma conversão de 4% em glicose e 64% em glucano.

Rinaldi *et al.* Utilizou a resina de estirenodivinilbenzeno macrorreticulada com grupos sulfônicos, também conhecido como Amberlyst, como catalisador na reação de despolimerização da celulose microcristalino comercial e de madeiras. A resina é um sólido ácido polimérico, um catalisador heterogêneo, em que, a estrutura de sua molécula apresenta os macroporos, locais onde estão localizados os sítios ácidos responsáveis pela hidrólise e formação da glicose, demonstrado na Figura 11, além de ser disponível comercialmente, baratos e estáveis na maioria dos solventes. No experimento, foi utilizado cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio ([BMIm]Cl) como solvente. Assim, 5 horas após o início do experimento, obteve-se cerca de 25% e 20% de rendimento da resina Amberlyst na hidrólise da celulose microcristalino e da madeira, respectivamente.

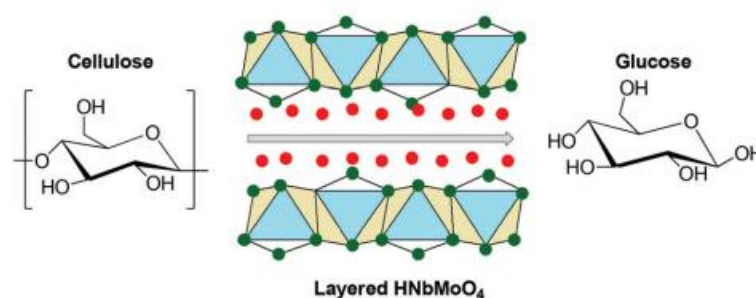


Figura 11: Representação da hidrólise da celulose intermediada por um ácido a base de polímeros.

Fonte: “Glucose production from saccharides using layered transition metal oxide and exfoliated nanosheets as a water-tolerant solid acid catalyst” (Takagaki *et al.*, 2008)

Em comparação aos catalisadores homogêneos, os heterogêneos apresentam menor taxa de conversão de hidrólise, contudo são mais acessíveis em questões experimentais, menos agressivos aos reatores, mais ambientalmente recomendáveis (geram menos resíduos), apresentam reciclabilidade, produtos mais fáceis de serem separados e tratados, e causam menores impactos ao meio ambiente (HUANG & YAO FU, 2013).

2.7. Planejamento Fatorial

Encontrar um planejamento estatístico adequado para se utilizar em pesquisas do tipo

experimentais laboratoriais não é simples, ainda mais ao se levar em conta o tempo gasto com cada experimento, a depender da quantidade de reagentes e amostras utilizados e disponíveis, a qualidade dos equipamentos etc. Com isso, para esse experimento, o Planejamento Fatorial foi o método estatístico mais adequado a ser usado, em que, antes de aprofundar no método, é necessário compreender alguns termos:

- Fator: Cada variável presente no estudo.
- Nível: Condições dos fatores escolhidos no sistema. Geralmente identificados por nível baixo (-) e alto (+).
- Efeito: Mudanças nas respostas a partir da diferenciação dos níveis, podendo utilizar mais de dois fatores como fonte de comparação. Matematicamente encontrado por:

$$\text{Efeito} = \overline{R_+} - \overline{R_-}$$

sendo $\overline{R_+}$: média dos valores de resposta obtidos com valores altos (+) do fator, e $\overline{R_-}$: média dos valores de resposta obtidos com valores baixos (-) do fator.

- Efeito principal: diferença média observada na resposta ao mudar o nível do fator investigado. Matematicamente encontrado por:

$$\text{Efeito principal} = \frac{2(\sum y^+ - \sum y^-)}{n^k}$$

Sendo y: a média dos efeitos individuais da medida, (+) e (-) corresponde ao nível alto e nível baixo, e n^k : número total de ensaios do planejamento.

O intuito do planejamento é simplificar o método a partir da determinação de um número confiável de experimentos a partir dos níveis e fatores escolhidos para o estudo, sem utilizar de diversos dados aleatórios que pouco conversam entre si, gerando resultados poucos conclusivos e demasiados vagos. O planejamento fatorial é o mais adequado para quem estuda a influência de duas ou mais variáveis, sendo que em cada experimento, todas as combinações entre as variáveis e seus níveis são investigadas (CUNICO *et al.*, 2008).

Definidos os fatores e seus níveis, pode-se aprofundar na técnica, a qual consiste, em cada experimento realizado ser um ensaio experimental do método, com o número de ensaios sendo definido a partir do fatorial entre os níveis e fatores, como por exemplo: um ensaio de nível n_1 com fator 1, nível n_2 com fator 2, ..., nível n_k de fator k, o planejamento será o fatorial de $n_1 \times n_2 \times \dots \times n_k$ (MARINHO & CASTRO, 2005).

Por esses fatores, em uma maneira geral, considerando n o número de níveis e k o de fatores, o número de ensaios presentes nos planejamentos é igual a n^k , sendo este valor o mínimo de ensaios para ter um planejamento seguro, podendo ser realizados outros ensaios ou réplicas dos próprios, para fins de segurança estatística, além que os ensaios são distribuídos de forma

aleatórias, pelos mesmos motivos de segurança, e a ordem da escolha das condições dos fatores de baixo (-) e alto (+) nível não altera os resultados do planejamento, somente a sua interpretação final (CUNICO *et al.*, 2008).

2.8 Álcool de segunda geração

Com o passar dos anos, o crescente uso de fontes de energia e a diminuição das fontes petrolíferas disponíveis, fez com que políticas públicas incentivassem a comunidade acadêmica a favor de estudar e procurar maneiras alternativas de se produzir energia ou produzi-la de maneira renovável. Para isso, a produção de etanol de primeira geração já está bastante consolidada. Porém, o etanol de segunda geração necessitaria passar por uma fase de pré-tratamento e hidrólise, com o intuito de transformar essa biomassa em glicose, a qual vai ser fermentada e produzirá etanol (FERREIRA, 2015). Etapas representadas na Figura 11:

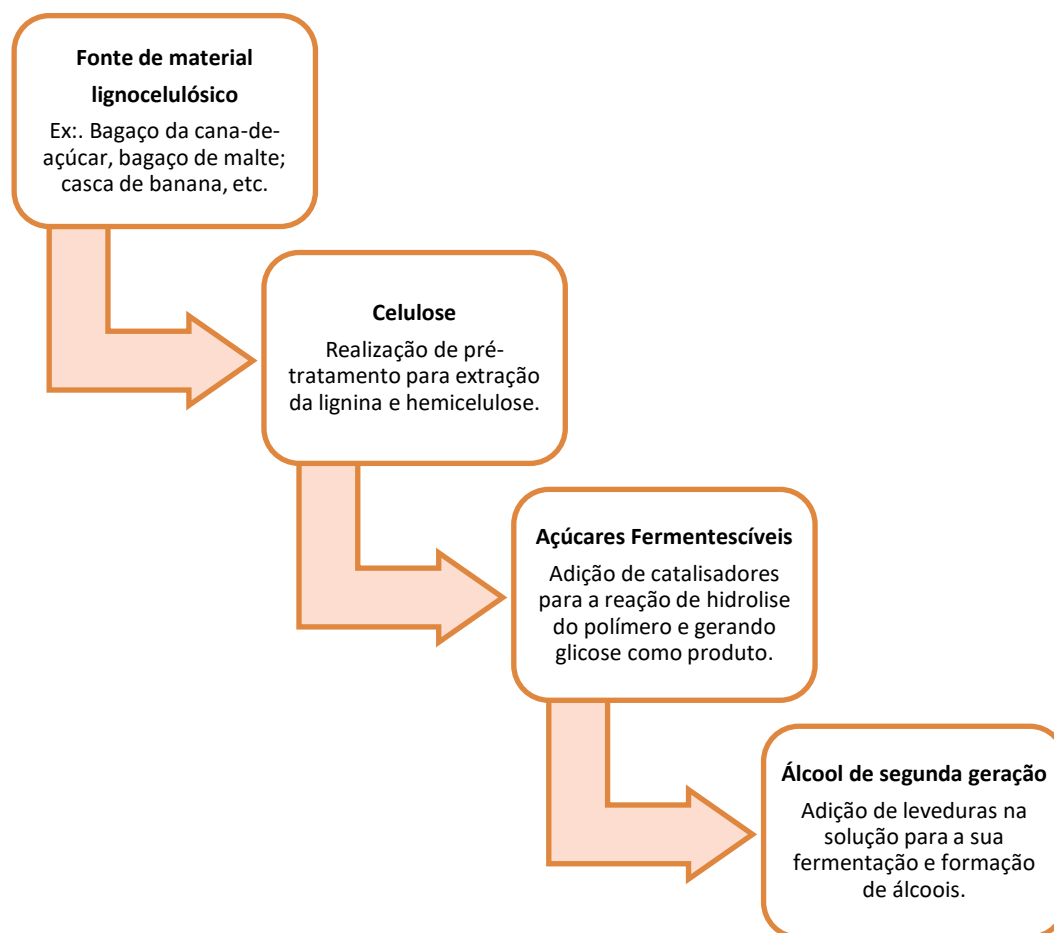


Figura 11: Esquema das etapas de produção do álcool de segunda geração.

A proposta surge com a possibilidade de dar uma nova destinação ao bagaço da cana-de-açúcar presente nas biorrefinarias por todo o mundo, contudo a produção de etanol de primeira geração ocorre em determinados momentos do ano, pois a planta utilizada depende de fatores climáticos para crescer sem prejudicar o produtor. Por se basear em coprodutos e resíduos agrícolas, a

comunidade científica começou uma procura por biomassas, as quais tem pouco valor agregado, procurando uma nova destinação a eles, caracterizando as suas estruturas internas e nutrientes presentes, métodos de tratamento, além de ter uma disponibilidade considerável. Com isso, o bagaço de malte proveniente de cervejarias se encontrou como uma excelente opção, por ser um produto amplamente produzido em todo o ano, e que a sua maior finalidade é o descarte e doação para fazendeiros locais (SANTOS et al., 2012). Diante do exposto, a proposta visa a produção de etanol de segunda geração para que o próprio responsável técnico possa produzir a fim de comercializar ou usar no processo de esterilização e sanitização de equipamentos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Esse trabalho tem como objetivo desenvolver o pré-tratamento do bagaço de malte, através da hidrólise ácida por meio dos catalisadores disponíveis: Ácido Sulfúrico e Resina comercial Dowex® 50XW8-100; as condições reacionais foram selecionadas a partir de um planejamento estatístico do tipo composto central rotacionado a três níveis, com três réplicas no ponto central, com mais oito ensaios para a investigação fatorial e mais seis nos pontos axiais (α), totalizando 17 experimentos, os quais serão caracterizados quando finalizados, comparando os testes proposto para analisar quais os mais vantajosos em termos dos fatores escolhidos.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterização do bagaço de malte;
- Definição das melhores condições reacionais para a catálise homogênea ou heterogênea;
- Comparação dos teores encontrados com os presentes na literatura.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Bagaço de malte

O bagaço utilizado nessa pesquisa foi fornecido pela Stadt Cervejaria, localizada em Luziânia/GO, composto por 100% de malte de cevada. As amostras foram retiradas logo após o término da brasagem, com a retirada do mosto cervejeiro, e armazenadas em ambiente refrigerado (-4°C), com o intuito de preservá-lo para posteriores tratamentos. A biomassa úmida foi submetida a secagem na estufa TECNEL TE 394/1, a 105°C por 24 horas.

Após estar seco, o bagaço de malte foi moído e peneirado no Laboratório de Bioprocessos Cervejeiros e Catálise Aplicada a Energias Renováveis (LaBCCERva/IQ-UnB), separando-o em dois tamanhos, em que, os de menores granulometria (710 µm) foram utilizados nas hidrólises pela melhor distribuição dentro dos reatores.

4.1.1 Celulose Comercial

Com o intuito de encontrar um material de comparação as reações com o bagaço, foi utilizado a celulose microcristalina da marca Synth®, a qual foi submetida as mesmas condições de reação do bagaço de malte.

4.2 Condições de pré-tratamento via hidrólise ácida

Com o intuito de encontrar o meio reacional mais adequado em questões de valores, condições experimentais e tempo, o bagaço tratado foi submetido a hidrólise pelos seguintes métodos: Catálise Homogênea Convencional (H₂SO₄); Catálise Heterogênea com a Resina Dowex® 50XW8-100.

O planejamento estatístico foi realizado aos moldes do estudo de Freitas *et al.* (2022), o qual utilizou-se do tipo composto de corpo central rotacionado em três níveis, com ensaios para a investigação fatorial e nos pontos axiais (α). Os ensaios foram preparados em reatores de Pyrex® com capacidade de 15 mL, local onde foi adicionado a massa do bagaço seco e da celulose comercial juntamente com a solução ácida diluída ou a matéria sólida ácida em solução.

As concentrações das soluções de ácido sulfúrico utilizadas foram 37,50 mg, 50,00 mg e 62,50 mg de H₂SO₄ (95,0% p/p) por grama de massa seca, variando a relação da massa de matéria seca com a de solução por 1:8, 1:10 e 1:12 (g/g). Os ensaios foram conduzidos em banho de óleo na chapa de aquecimento sob agitação constante a 120°C por 30, 60 e 90

minutos, utilizando 0,5 g de matéria seca, pesando a quantidade correspondente ao experimento do ácido (H₂SO₄, 95 % p/p por grama de matéria seca), obedecendo a razão de massa de matéria seca e massa de solução ácida (g/g).

A resina Dowex®, utilizada no estudo de Guimarães (2017), foi caracterizada e descrito o funcionamento do sólido na catálise heterogênea, em que, inicialmente é necessário realizar um tratamento com ácido clorídrico (1,0 M), em temperatura ambiente e sob agitação constante em uma placa de agitação por 24 horas, com posterior filtração, pois a resina é utilizada para trocas iônicas, com o intuito de retirar os íons cloretos (Cl⁻), comprovado após o teste com uma solução 0,1 M de AgNO₃ na água de lavagem e formando o precipitado branco. Guimarães (2017) encontrou que a resina apresenta 5,16 mmol/g de sítios ácidos em solução, com isso, foi realizado a conversão a partir da concentração de ácido sulfúrico utilizado na catálise homogênea. As variáveis independentes e os valores dos seus níveis reais e codificados para a reação com ácido diluído e a resina estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Variáveis independentes e seus níveis utilizados no planejamento experimental.

Variáveis independentes	Unidades	Níveis				
		-1	0	1	A	- α
H ₂ SO ₄	mg/g	37,5	50	62,5	71,02242	28,97758
Dowex®	mg/g	0,074097	0,098796	0,123495	0,140335	0,057257
Tempo	Min	30	60	90	110,4538	9,5462
Solução	g/g	1:8	1:10	1:12	1:13,7	1:6,6

4.3 Método de quantificação de glicose

Para a quantificação do teor de glicose nos hidrolisados, foi utilizado o kit de Glicose Monoreagente reagente da marca Bioclin®. O kit é constituído por dois fracos denominados por R1 e R2, em que R1 é uma enzima e R2 é a glicose monoreagente, e ao adicionar os dois em solução, é formado um complexo, o qual ao ser analisado em um espectrofotômetro UV-vis, a resposta do equipamento é uma banda em torno dos 507 nm⁻¹.

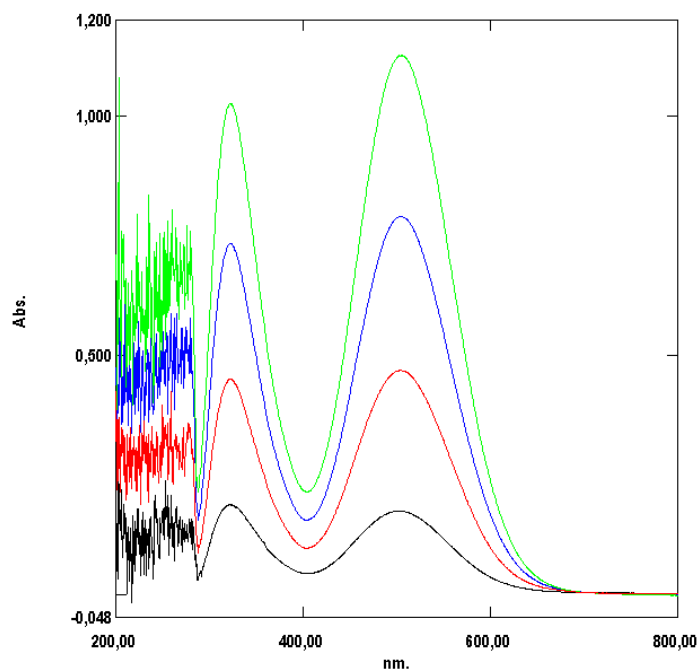


Figura 12: Espectrofotômetro UV-vis para os padrões.

O teste de quantificação foi realizado com o auxílio de um Espectrofotômetro UV-2450 da marca SHIMADZU® do Laboratório de Materiais e Combustíveis (LMC-UnB). Inicialmente foi construído a curva de padrão, em que, foi adicionado 3 mL da solução R1 nas duas cubetas de quartzo para realização da corrida do Branco. Posteriormente, foram adicionadas alíquotas de 30 μL , anotando cada valor de absorvância presente no programa anexado ao equipamento. Foram realizadas quatro alíquotas, e com suas respectivas respostas, foi traçado uma linha de tendência, gerando uma função linear do tipo $y = a.x + b$, em que, ao comparar com a equação de Lambert-Beer, Absorbância = (Caminho Óptico) x (Absortividade Molar) x (Concentração), sabendo que o caminho óptico e a absortividade molar são constantes durante toda a caracterização, obtemos um gráfico de concentração (eixo y) X volume adicionado (eixo x), o qual será utilizado como referência para encontrar as concentrações das amostras a partir da resposta obtida para cada ensaio.

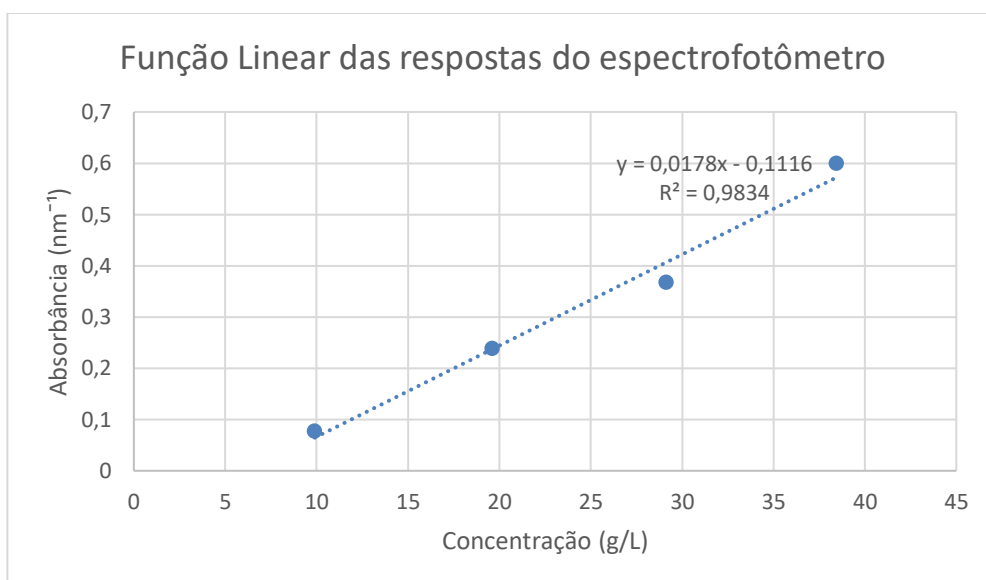


Figura 13: Absorbância X Concentração, com a equação padrão e R^2 dela.

Para a resposta das amostras, é necessário adicionar um volume determinado de amostra em 3 mL de R1 dentro da cubeta, realizando a corrida e obtendo a resposta. Com a equação padrão, conhecido o valor de amostra a ser adicionado na cubeta, o volume de R1 adicionado nela, a concentração de R1 e o volume de solução de cada ensaio, é possível, a partir do cálculo de diluição de soluções, encontrar a concentração de cada amostra.

4.4 Planejamento estatístico

O planejamento estatístico, a partir dos resultados da hidrólise das amostras de bagaço de malte e celulose microcristalino comercial, encontrado o valor da concentração (g/L), foi utilizado o programa de computador Statistica 12.5.192.7 Enterprise, com a concentração de glicose como termo principal e a concentração ácida (mg/g), tempo (min) e relação mássica (g/g) as variáveis influenciadores, analisando os resultados em conjunto, retirando o resultado de variância (ANOVA), os valores dos efeitos principais para cada variável e combinações entre elas, reta dos valores esperados X obtidos, e os mapas de superfície 2D e 3D analisando os resultados a partir das combinações entre variáveis.

A Resina Dowex® foi somente realizado um único ensaio com a celulose microcristalino comercial, definido a partir do ensaio com maior conversão a glicose do planejamento fatorial da hidrólise com ácido diluído.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesse tópico, serão analisados os resultados da concentração de glicose provenientes das catálises, homogênea com ácido diluído e heterogênea com a resina, para a hidrólise da celulose do bagaço de malte e da celulose microcristalino comercial, a partir de tabelas, figuras e gráficos gerados pelo programa de computador Statistica 12.5.192.7 Enterprise.

Na Tabela 3, são apresentados os valores de composição dos bagaços da produção de cerveja estudados.

Tabela 3: Dados de composição do bagaço. Fonte: “Síntese de Catalisadores a partir de Biomassas Residuais e sua Aplicação na Produção de Biocombustíveis” (EVARISTO, 2018).

Composição (g.100 mL⁻¹ %)	Massardi, 2020	Maione, 2019	Mussato, 2005	Presente Estudo
Celulose	15,99	25,10	16,80	11,60
Hemicelulose	29,92	20,93	28,40	32,50
Lignina	20,80	20,33	27,80	34,00
Proteína	21,16	27,98	15,20	-
Extrativos	-	-	-	18,70

Mussato e Roberto (2006), abordam a importância da caracterização química do bagaço de malte utilizado no estudo, pelo fato que as cervejas são receitas, as quais sofrem alterações de ingredientes, como os grãos de cevada/malte para cada determinado estilo, adição de mantimentos como açúcar, arroz, milho, aveia, e utilização equipamentos diferentes, alguns mais simples como as panelas, outros mais complexos como as panelas triblocos, responsáveis por diferenciar a característica sensorial de cada cerveja, a depender do estilo, para cada produtor.

No presente estudo, as características são diferentes dos outros comparados na Tabela 3, não apresentando a percentagem de proteína do bagaço de malte utilizado, substituindo por extrativos, e pelo fato de não quantificar proteínas, infere na comparação com os outros estudos. Os extrativos são essencialmente compostos orgânicos menores, como ácidos e aldeídos. No processo, ocorre, também, a extração de alguns ácidos graxos que podem estar presentes (normalmente reportado como teor de lipídeos, mas o processo de extração de dá no mesmo).

Santos et al. (2021) reporta a análise do bagaço de cerveja em cinco análises principais, teor de umidade, proteína, teor de gorduras, teor de cinzas e teor ácidos fenólicos em um lote com 8 amostras. Nos dados reportados o teor médio de cinzas é de 3,4%, enquanto para gorduras é de 5,6% (essas gorduras são extraídas com o solvente detil éter em extrator soxhlet, como realizado neste trabalho para análise de extrativos embora usem solventes diferentes). Os

dados de cinzas corroboram a composição para os bagaços deste estudo, enquanto o teor de gorduras (lipídeo) não foi realizado.

Os teores de celulose 11,6%, hemicelulose média de 32,5% e valor médio de lignina total (solúvel e insolúvel) é de 34,0%. Tal resultado aponta uma quantidade significativa de hemicelulose e lignina nas biomassas, fato de extrema importância para utilização deste recurso em bioprocessos, uma vez que dificulta o acesso do catalisador às ligações que serão quebradas.

5.1 Bagaço de malte

As respostas das concentrações de glicose para a hidrólise ácida do bagaço de malte nas condições estabelecidas pelo planejamento do tipo composto central para o bagaço seco e triturado, estão na Tabela 4.

Tabela 4: Matriz do DCCR (Distribuição do Composto Central Rotacional) apresentando as variáveis independentes codificadas e não codificadas e os resultados de concentração de hidrólise do bagaço de malte.

N° solução	Ácido (mg)	Tempo (min)	Vol. sol. (g)	Conc. (g/L)
1	18.75	30.00	4.00	7.69
2	18.75	30.00	6.00	4.65
3	18.75	90.00	4.00	17.39
4	18.75	90.00	6.00	12.88
5	31.25	30.00	4.00	7.89
6	31.25	30.00	6.00	5.93
7	31.25	90.00	4.00	2.04
8	31.25	90.00	6.00	13.55
9	14.49	60.00	5.00	≥ 15.00
10	35.51	60.00	5.00	3.86
11	25.00	9.55	5.00	10.99
12	25.00	110.46	5.00	13.12
13	25.00	60.00	3.32	≥ 15.00
14	25.00	60.00	6.68	4.55
15 (C)	25.00	60.00	5.00	9.25
16 (C)	25.00	60.00	5.00	9.25
17 (C)	25.00	60.00	5.00	6.09

Antes de começar as investigações sobre a hidrólise ácida do bagaço seco, ao realizar as análises no espectrofotômetro, algumas das respostas de absorvância apresentaram bandas pouco conclusivas, por conta de uma possível interferência causada pela coloração da solução, mesmo após filtração, a qual tinha um aspecto escuro e não transparente.

Analisando as concentrações de glicose, percebe-se que os pontos centrais apresentam um ensaio com resultado diferente (17), distorcendo a reprodutividade deles, sendo explicado por uma possível interferência na amostra em sua caracterização. Os ensaios 9 e 13 estão descritos com concentrações maiores que 15,00 g/L pelo fato de suas leituras serem inconclusivas, em que, este valor foi definido após retirada da média dos volumes da cubeta e

de amostra utilizados em todos outros ensaios, utilizando o maior valor de absorvância encontrado no método de quantificação de glicose. Excluindo-os, os ensaios 3 e 8 são os de maiores concentrações, 13,55 e 17,39 g/L, respectivamente. Nos dois casos, o tempo foi de 90 minutos. Comparando os ensaios 7 e 8, em que ambos tiveram o mesmo tempo de reação e concentração ácida, observa-se uma diminuição de 88% da concentração, indicando uma possível influência negativa da relação mássica.

A partir dos valores apresentados na Tabela 3, realizou-se uma regressão múltipla obtendo uma estimativa dos efeitos de cada variável avaliada na hidrólise ácida do bagaço e suas interações. Os resultados estão expostos na Figura 14:

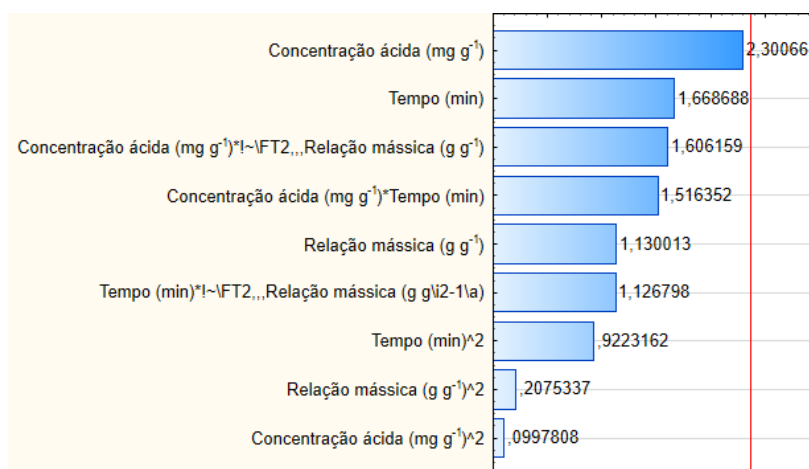


Figura 14: Efeito dos parâmetros significativos para o estudo da hidrólise do bagaço de malte.

O modelo acima gerou um coeficiente de determinação $R^2 = 70,1\%$ pelo método de variância (ANOVA), o qual é considerado baixo ($< 90\%$), mostrando que há certas dispersões dentro do estudo que inviabilizam análises aprofundadas, observados na Figura 15 de variáveis esperadas X variáveis observáveis, notando-se pela presença de vários pontos fora da reta. Contudo, foram gerados mapas de superfície que correspondem a cada par de variáveis independentes em função da variável resposta.

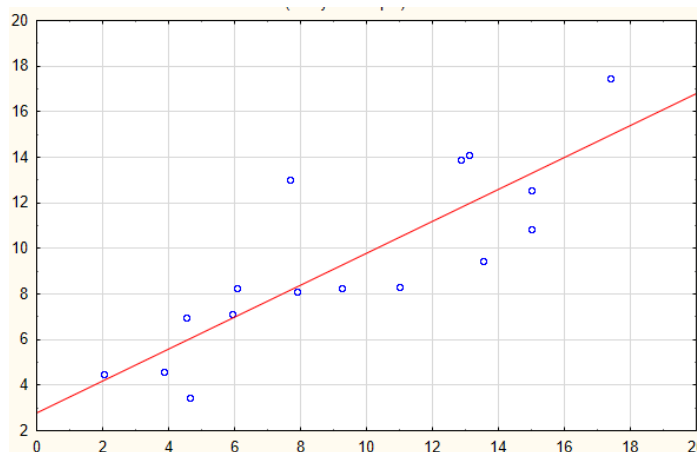


Figura 15: Variáveis Esperadas X Variáveis Observadas para o planejamento estatístico da

hidrólise do bagaço de malte.

Observado os efeitos dos parâmetros significativos, nota-se que os termos lineares de concentração ácida e o tempo apresentaram, respectivamente, a maior e a segunda maior influência no estudo do bagaço de malte, sendo o primeiro 72,5% a mais que o segundo. Com os mapas de superfície (Figura 16), percebe-se na relação tempo e concentração ácida, os maiores teores de glicose se encontram nas extremidades positivas, notando-se pelos ensaios 8 e 13, segundo e terceiro maior valor de concentração de glicose, os quais as reações foram mais longas (níveis +1 e +1,7) com a concentração ácida variando os termos (0 e +1). A relação mássica foi a que apresentou menor valor de efeito nos parâmetros, e aos analisar os resultados, é visível uma certa linearidade em sua relação com o tempo, mostrando a maior influência do segundo termo nas reações, e a ao ser analisado com a concentração ácida, encontra-se polaridades, com as maiores concentrações de açúcares presentes na combinação dos maiores e menores níveis de ácido e massa, perceptível pelos ensaios 3 e 8 (níveis -1 e -1; +1 e +1 para as variáveis mássica e ácido), os de maiores concentrações do estudo do bagaço.

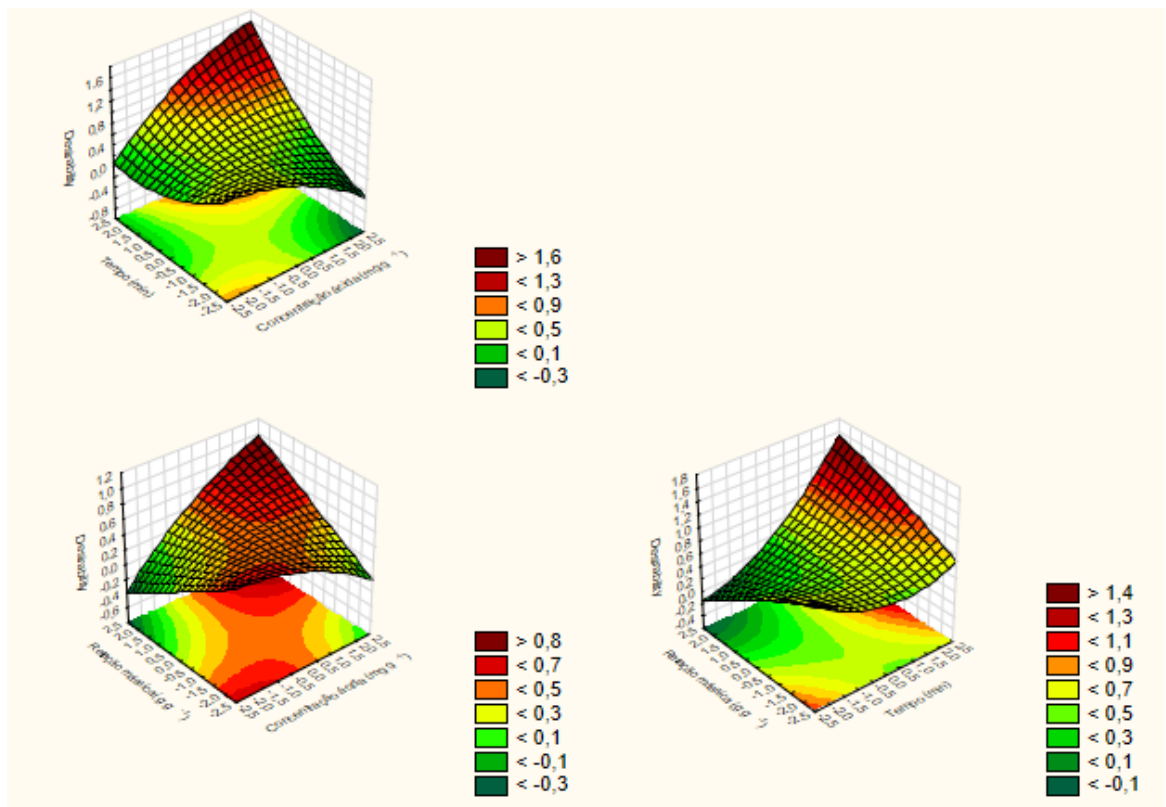


Figura 16: Mapas de superfície gerados pelo Statistica para a hidrólise do bagaço de malte. (1) no canto superior a esquerda, gráfico 3D da Concentração ácida (mg.g⁻¹) X Tempo (min) X Concentração de glicose (g.L⁻¹); (2) no canto inferior a esquerda, Concentração ácida (mg.g⁻¹) X Relação mássica mg.g⁻¹ X Concentração de glicose (g.L⁻¹); (3) no canto inferior a direita, Tempo (min) X Relação mássica (mg.g⁻¹) X Concentração de glicose (g.L⁻¹).

Comparando o respectivo estudo com outros, encontra-se algumas relações, como no

estudo de Kempka *et al.* (2022), analisou o efeito de diversos ácidos diluídos na hidrólise do bagaço de malte, sendo um deles o ácido sulfúrico, o qual foi adicionado em concentrações de 5%, 10%, 15% e 20% em solução, diminuindo gradativamente a concentração de glicose conforme aumenta a concentração ácida, o contrário que aconteceu nesse estudo. E ao analisar o tempo, com reações a 10, 20, 30 e 40 minutos, os resultados foram inconclusivos sobre a sua influência na transformação em açúcares, e nesse estudo quanto maior o tempo da reação, maior a tendência de aumentar o teor de glicose.

No estudo de Freitas *et al.* (2022), o qual foi usado como referência para essa pesquisa, em que, nele foi utilizado o mesmo planejamento estatístico, alternando os valores dos fatores, de 12, 17 e 22 minutos para 30, 60 e 90 minutos, e dobrando a massa de H₂SO₄ por grama de bagaço seco, ou seja, dobrando a concentração ácida, em que, para o bagaço de malte seco a 60°C. Segundo a investigação estatística encontrada em seu estudo, a variável linear tempo foi a que obteve maior influência no seu estudo, enquanto que a relação ácida obteve influência negativa, ou seja, maiores concentrações de ácido obtiveram menores teores de açúcar.

Freitas *et al.* (2022), em sua conclusão, comentou sobre a necessidade de estudos com intervalos de tempos maiores para melhor investigação da variável na reação de hidrólise, por conta da influência positiva, contudo alertou sobre a degradação da glicose, em que, analisando o ensaio 7 desse estudo, o qual teve níveis positivos de tempo e concentração ácida (+1 e +1), sua amostra foi a de menor concentração de glicose global da hidrólise envolvendo o bagaço, tendo como principal suspeito a quebra das ligações internas da molécula de glicose, formando subprodutos de menor peso molecular (hidroximetilfurfurais e furfurais), ou até mesmo a degradação das estruturas que envolvem a celulose que compõe o bagaço de malte, a lignina e a hemicelulose. Esses supostos subprodutos podem ser os responsáveis pela interferência na resposta do espectrofotômetro, gerando dados suspeitos e diminuindo a qualidade do planejamento estatístico.

5.2 Celulose microcristalino comercial

2.2.1 Hidrólise via catálise homogênea

As respostas das concentrações de glicose para a hidrólise ácida da celulose microcristalino comercial nas condições estabelecidas pelo planejamento do tipo composto central, estão na Tabela 5.

Tabela 5: Matriz do DCCR apresentando as variáveis independentes codificadas e não codificadas e os resultados de concentração de hidrólise da celulose microcristalino comercial.

N° solução	Ácido (mg)	Tempo (min)	Vol. sol. (g)	Conc. (g/L)
1	18.75	30.00	4.00	10.85
2	18.75	30.00	6.00	7.97

3	18.75	90.00	4.00	7.32
4	18.75	90.00	6.00	7.97
5	31.25	30.00	4.00	7.91
6	31.25	30.00	6.00	< 7.00
7	31.25	90.00	4.00	12.95
8	31.25	90.00	6.00	28.73
9	14.49	60.00	5.00	9.01
10	35.51	60.00	5.00	9.39
11	25.00	9.55	5.00	< 7.00
12	25.00	110.46	5.00	26.27
13	25.00	60.00	3.32	15.61
14	25.00	60.00	6.68	< 7.00
15 (C)	25.00	60.00	5.00	10.68
16 (C)	25.00	60.00	5.00	10.71
17 (C)	25.00	60.00	5.00	10.40

Novamente, ao observar os valores de teor de glicose encontrados, encontra-se resultados escrito como menores de $7,00 \text{ g.L}^{-1}$, e como no caso do bagaço, esse resultado é proveniente de uma não leitura do equipamento, tendo como principal suspeita uma baixa concentração da amostra ao ponto de não gerar o complexo em quantidades necessárias para gerar uma resposta conclusiva. Para substituí-lo, foi encontrado, a partir do cálculo médio do volume das cubetas e o volume inicial de cada amostra, calculando a sua concentração a partir do menor valor de absorvância encontrada no teste de caracterização.

Analisando a tabela 5, notamos que os pontos centrais apresentaram uma boa reprodutividade dos dados, e que os valores de concentração, em geral, são maiores que os do bagaço, observado nos ensaios 8 e 12, os de maiores valores nesse planejamento estatístico, em que ambos apresentam os maiores níveis de tempo (+1 e +1,7). Além deles, os ensaios 6, 11 e 14, os que não obtiveram leitura no espectrofotômetro, oscilavam nos níveis negativos da variável linear tempo (-1, -1,7 e 0, respectivamente), mostrando uma possível influência positiva da variável no planejamento da celulose comercial. Comparando 13 com 14, em que ambos tinham o mesmo nível para tempo e de concentração ácida, notamos que o ensaio 13, o de menor valor mássico (-1,7) obteve maior concentração que o de maior (+1,7), notável também ao comparar os ensaios 1 e 2, 3 e 4, 5 e 6, sendo a única exceção os ensaios 7 e 8, em que, o ensaio 8 obteve a maior concentração desse planejamento, podendo modificar o valor do efeito em relação ao fator relação mássica, mas é notável uma influência negativa.

O modelo, Figura 17, gerou um coeficiente de determinação $R^2 = 81,1\%$ pelo método de variância (ANOVA), o qual é consideravelmente baixo (< 90%), contudo é maior do que o estudo realizado para o bagaço de malte, ainda mostrando que há certas dispersões dentro do estudo que inviabilizam análises aprofundadas, mas com resultados mais claros, observados no

gráfico de variáveis esperadas X variáveis observáveis (Figura 18), notando-se pela presença de pontos fora da reta. Contudo, foram gerados mapas de superfície que correspondem a cada par de variáveis independentes em função da variável resposta.

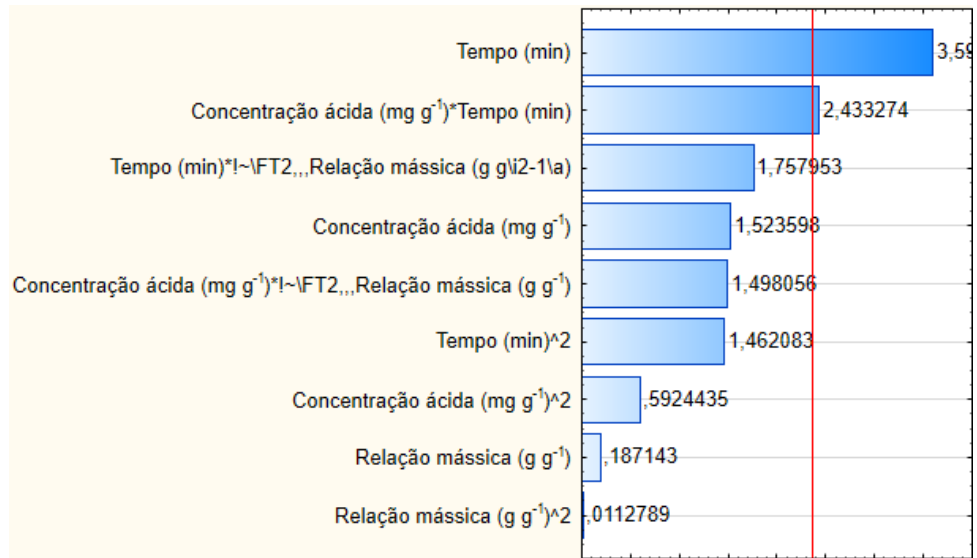


Figura 17: Efeito dos parâmetros significativos para o estudo da hidrólise da celulose microcristalina comercial

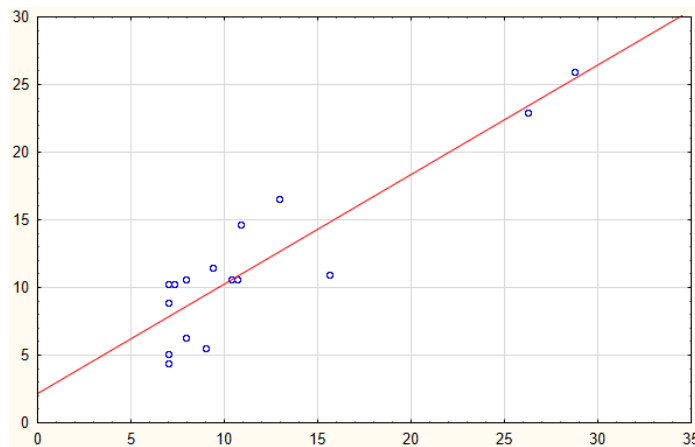


Figura 18: Variáveis Esperadas X Variáveis Observadas para o planejamento estatístico da hidrólise da celulose microcristalina comercial.

Observando a tabela com os parâmetros (Figura 17), percebe-se a grande influência da variável tempo nesse estudo estatístico, cerca de 68% maior que a segunda mais influente, concentração*tempo, provando o fato de os ensaios com níveis +1 e +1,7 apresentarem os maiores valores de concentração de glicose, com exceção para o ensaio 1, o qual apresentava -1 para tempo e obteve concentração maior do que 2 ensaios de nível +1. Já a relação mássica foi responsável pelas menores influências, sendo negativa para a sua investigação quadrática (quando analisa sua influência por ela mesma), perceptível nos mapas de dispersão (Figura 19) nas relações Concentração ácida X Relação mássica e Tempo X relação mássica, em que os

maiores teores de açúcar se localizam nos menores níveis de relação mássica.

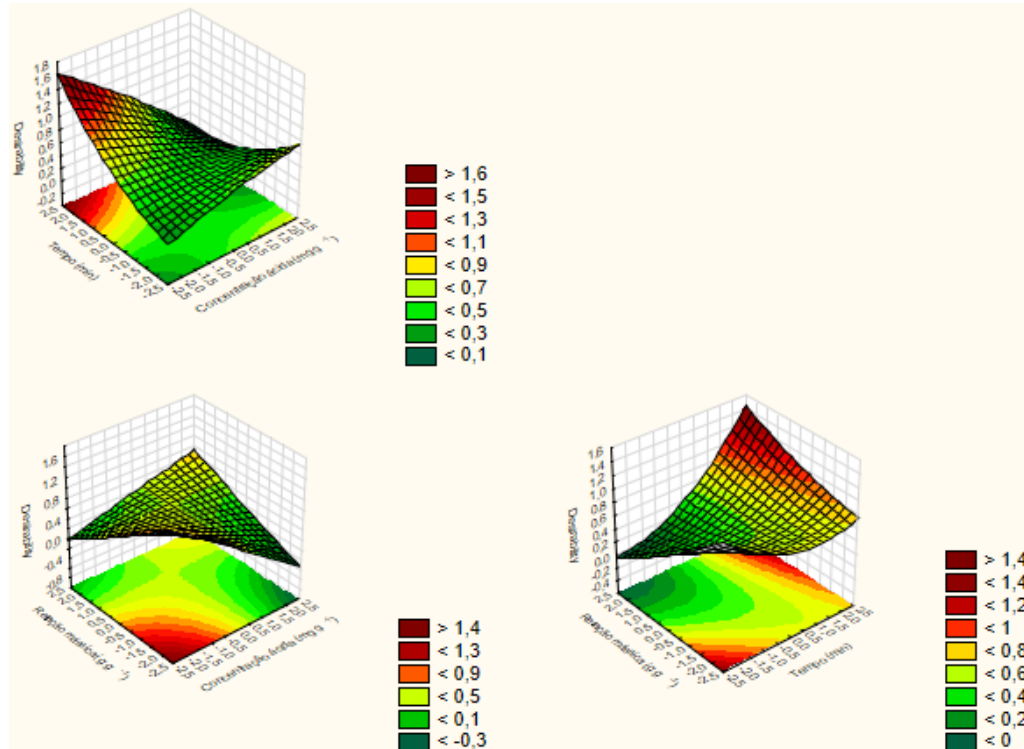


Figura 19: Mapas de superfície gerados pelo Statistica para a hidrólise da celulose microcristalino comercial. (1) no canto superior a esquerda, gráfico 3D da Concentração ácida (mg.g^{-1}) X Tempo (min) X Concentração de glicose (g.L^{-1}); (2) no canto inferior a esquerda, Concentração ácida (mg.g^{-1}) X Relação mássica mg.g^{-1} X Concentração de glicose (g.L^{-1}); (3) no canto inferior a direita, Tempo (min) X Relação mássica (mg.g^{-1}) X Concentração de glicose (g.L^{-1}).

O intuito de usar a celulose microcristalino comercial é para substituir a própria celulose do bagaço após pré-tratamento por conta das suas baixas taxas de conversão, grande quantidade de tempo requerido e alto gasto de reagentes, utilizando a amostra comercial que já está pronta e apresenta valor econômico acessível para a realização do estudo. Comparando com os resultados do bagaço de malte, neste planejamento estatístico a linearidade dos resultados foi maior, mostrando com maior clareza as influências de cada fator, além de, contar com baixas interferências na caracterização, aumentando as hipóteses de degradação dos materiais lignocelulósicos presente no bagaço.

2.2.2 Hidrólise via catálise heterogênea

Catalisadores heterogêneos apresentam menores rendimentos em comparação com os homogêneos, por isso, nesse estudo, utiliza-se do planejamento estatístico não contribuiria para melhores resultados, gerando dados pouco conclusivos. Com isso, foram usados os ensaios 8 e 12 como referências de reação para a resina Dowex®, utilizando de suas condições experimentais para serem analisadas, observados na Tabela 6, em que o ensaio 8 é descrito

como a solução N° 1 e o ensaio 12 a N° 2.

Tabela 6: Resultados e condições experimentais da catálise heterogênea realizada com a resina Dowex® para a hidrólise da celulose microcristalino comercial.

N° solução	Ácido (mg)	Tempo (min)	Vol. sol. (g)	Conc. (g.L⁻¹)
1	31.25	90.00	6.00	11,37
2	25.00	110.46	5.00	-

A solução N° 2 não gerou resposta conclusiva para a hidrólise, contudo a N° 1 nos gerou concentração de 11,37 g.L⁻¹, valor menor do que na catálise homogênea, contudo significativo, por ser o ensaio com maior teor de glicose na catálise homogênea da celulose comercial, e por não se tratar de um ácido forte, o qual corrói os reatores e tem difícil tratamento pós reação, além de ser reciclável. Comparando com o estudo de Tian *et al.* (2010), o qual utilizou do catalisador heterogêneo H₃PW₁₂O₄₀ na hidrólise de celulose microcristalino comercial (obtida de J&K Chemical Ltd), analisando os rendimentos em concentrações ácidas diferentes, tendo como resultados concentrações maiores de glicose com maiores concentrações do poliácido.

A solução N° 1 apresentava concentração ácida com nível positivo (+1), mostrando influência dessa variável, e pelos resultados de Tian *et al.* (2010), em reações com maiores quantidades de sítios ácidos é esperado maiores concentrações de glicose.

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Levando em consideração os valores do teste de variância (ANOVA), chegaríamos as conclusões que, tanto para o bagaço de malte quanto para a celulose microcristalino comercial, as condições experimentais utilizadas no planejamento estatístico geraram resultados falhos. Contudo respostas foram obtidas, e algumas muito interessantes, representados os melhores resultados dessa pesquisa na Tabela 7, com concentração máxima de 17,39 g.L⁻¹ de glicose para o bagaço de malte, em nível negativo de concentração ácida (-1), sendo que a influência para essa variável é a mais significativa segundo o estudo estatístico. Contudo, sob condições positivas da influência ácida, obteve-se os menores resultados de 2,04 e 3,86 g.L⁻¹ (+1 e +1,7), sendo contraditórias aos resultados encontrados pelo planejamento, entretanto, em solução, há um ácido forte e a matéria seca não tratada, com isso reações com o material lignocelulósico podem ter acontecido, gerando subprodutos que interferiram nos resultados do espectrofotômetro, e por consequência os resultados desse estudo.

Tabela 7: Melhores resultados e suas respectivas condições experimentais das hidrólises do bagaço de malte e da celulose microcristalino comercial.

Solução	Material	Ácido (mg)	Tempo (min)	Vol. sol. (g)	Conc. (g.L ⁻¹)
Catálise homogênea (H ₂ SO ₄)	Bagaço de malte	18.75	90.00	4.00	17.39
Catálise homogênea (H ₂ SO ₄)	Celulose microcristalino comercial	31.25	90.00	6.00	28.73
Catálise heterogênea (Resina Dowex®)	Celulose microcristalino comercial	31.25	90.00	6.00	11.37

Aumentando essa hipótese ao comparar a qualidade dos resultados da celulose microcristalino comercial. Além que, a própria glicose produzida na reação pode ter sofrido hidrólise gerando subprodutos de menores massas moleculares e que não complexavam com o reagente do kit utilizado na caracterização, gerando como resposta teores mais baixos do que o esperado pelo planejamento estatístico.

Para a celulose microcristalino comercial, a variável linear tempo foi a de maior influência estatística em seu planejamento, tendo como maiores teores de glicose, 28,73 e 26,27 g.L⁻¹, ensaios 8 e 12, os quais tinham nível positivo (+1 e +1,7, respectivamente). Além do

tempo, a relação Concentração ácida*Tempo foi a com segunda maior influência, mostrando a relação direta de acidez com a hidrólise da celulose, sendo os ensaios 7 e 8 detentores dos níveis positivos para as duas variáveis (+1 e +1), modificando somente com a relação mássica, obtendo o maior valor de concentração de glicose desse planejamento com o nível +1, sendo o único caso em que comparação os teores com mesmos níveis para a concentração ácida e tempo, gerou influência positiva para a relação mássica, mostrando a sua influência negativa para o planejamento da celulose comercial.

Utilizando a resina Dowex®, catalisador heterogêneo, sob as mesmas condições experimentais responsáveis pelos melhores resultados no planejamento estatístico da celulose microcristalina comercial, a concentração de glicose caiu para 11,37 g.L⁻¹, valor que era esperado, pelo fato que catalises heterogêneas tendem a ter rendimentos menores que as homogêneas, ainda mais pelo fato que o catalisador usado antes era um ácido forte. Por ser uma reação com catalisador menos agressivo aos reagentes e ao reator utilizado, ao aumentar os seus sítios ácidos, é esperado maiores teores de glicose, pela menor degradação da molécula.

O estudo em questão terá continuidade pelos alunos do LabCCERva-UnB, dando continuidade as etapas da economia circular com o intuito de gerar alternativas aos empreendedores cervejeiros e no tratamento de bioprodutos. Conclui-se que esse estudo obteve resultados que demonstram ser viável tecnologicamente a produção de etanol de 2ª geração a partir do bagaço de malte.

8. REFERÊNCIAS

- 1) BROWNING, B.L. The Chemistry of Wood. Interscience: New York, 1963
- 2) CARVALHO, J.M., *et al.* Utilização do bagaço de malte como alimentação animal: uma alternativa para o pequeno produtor. Cadernos UniFOA, Volta Redonda (RJ), v. 16, n. 46, p. 1-7, ago, 2021.
- 3) CORDEIRO, L.G. Caracterização e viabilidade econômica do bagaço de malte oriundo de cervejarias para fins energéticos, Tese (Mestrado), Centro de Tecnologia, UFPB, 2011.
- 4) CUNICO, M.W.M; VOLPATO, N. *et al.* Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. Visão Acadêmica, Curitiba v.9, n.1, Jan. - Jun./2008.
- 5) EVARISTO, R.B.W. Síntese de Catalisadores a partir de Biomassas Residuais e sua Aplicação na Produção de Biocombustíveis. Tese (Mestrado), Instituto de Química, UnB, 2018.
- 6) FERREIRA, J. Etanol de segunda geração: definição e perspectivas. Rev. Conexão Eletrônica, Três Lagoas (MG), v. 12, n. 1, 2015.
- 7) FORSELL, P., *et al.* Hydrolysis of brewer's spent grain by carbohydrate degrading enzymes. Journal of the Institute of Brewing, VOL. 114, NO. 4, 2008.
- 8) FREITAS, F.F., *et al.* Estudo das condições de preparo do bagaço de malte de cervejaria na obtenção de glicose após sua hidrólise ácida. A Química nas Áreas Natural, Tecnológica e Sustentável 3, Capítulo 8, 2022.
- 9) GEREMIAS, R., *et al.* Estudo das propriedades funcionais do hidrolisado do bagaço das cervejas do tipo lager e pilsen. Brazil Journal of Development, Curitiba, v. 7, n. 3, p. 32469-32477, mar, 2021.
- 10) GUIDO, L.F., e MOREIRA, M.M. Techniques of extraction of brewer's spent grain polyphenols: a review. Food Bioprocess Technol 10, p. 1192-1209, 2017.
- 11) GUIMARÃES, M.G. Tese (Mestrado), Instituto de Química, UnB, 2017.
- 12) HUANG, Y.B., e FU, Y. Hydrolysis of cellulose to glucose by solid acid catalysts. Green Chem., 15, 1095–1111, 2013
- 13) JIN, Z., *et al.* Physicochemical composition, fermentable sugars, free amino acids, phenolics, and minerals in brewers' spent grains obtained from craft brewing operations. Journal of Cereal Science 104, 2022.
- 14) KENNEDY, J.F.; PHILLIPS, G.O.; WILLIAMS, P.A. Wood and Cellulosics: Industrial Utilizations, Biotechnology, Structure and Properties. Ellis Horwood:

- Chichester, 1987.
- 15) KEMPKA, A.P., *et al.* Hidrólise química do bagaço de malte: influências de diferentes ácidos e parâmetros operacionais. 25° SIC UDESC, 2022.
 - 16) LIGUORI, R., *et al.* Second generation ethanol production from brewer's spent grain. *Energies*, 8, p. 2575-2586, 2015.
 - 17) MAIONE, N.R. Pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de malte (BSG) visando a produção de etanol de segunda geração, Tese (Mestrado), Instituto de Química, UFG, 2019.
 - 18) MAPA. Anuário da Cerveja 2021. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Secretaria de Defesa Agropecuária; Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal; Coordenação-Geral de Vinhos e Bebidas, Brasília, 2022.
 - 19) MARINHO, M.R.M.; CASTRO, W.B. Planejamento fatorial: uma ferramenta poderosa para os pesquisadores. CONGEBE, Campina Grande (PB), 12 a 15 setembro, 2005.
 - 20) MASSARDI, M.M., *et al.* Caracterização química do bagaço de malte e avaliação do seu potencial para obtenção de produtos de valor agregado. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, Vol. 6, N. 01, 2020.
 - 21) MELLO, L.R.P.F., e MALI, M. A combination of chemical and physical pretreatments in the saccharification of malt bagasse: the effects of ultrasonication in diluted acid medium. *Biomass Conv. Bioref.*, 2020.
 - 22) MENDONÇA, L.V.R. Potencial produtivo do etanol de segunda geração: uma revisão, Tese (Conclusão de Curso), Centro Universitário Toledo, 2020.
 - 23) MITRI, S., *et al.* Valorization of brewers' spent grains: pretreatments and fermentation, a review. *Fermentation*, Vol. 8, N. 50, 2022.
 - 24) MUSSATO, S.I., *et al.* Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science*, Vol. 43, 2006.
 - 25) MUSSATO, S.I., e ROBERTO, I. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81:268–274, 2006.
 - 26) MUSSATO, S.I., *et al.* Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 43, 2008.
 - 27) NELSON, D.L.; Cox, M.M.; *Princípios de Bioquímica de Lehninger*, 6ª edição, 2014.
 - 28) NREL; National Renewable Energy Laboratory 1995; Vol. LAP-003.

- 29) NREL; National Renewable Energy Laboratory 1995; Vol. LAP-004.
- 30) RAVINDRAM, R., *et al.* A comparative analysis of pretreatment strategies on the properties and hydrolysis of brewers' spent grain. *Bioresource Technology*, Vol. 248, 2018
- 31) ROJAS-CHAMORRO, J.A., *et al.* Ethanol production from brewers' spent grain pretreated by dilute phosphoric acid. *Energy & Fuels*, Vol. 32, 2018.
- 32) RINALDI, R., *et al.* Depolymerization of cellulose using solid catalysts in ionic liquids. *Angewandte Chemie*, 120, 8167–8170, 2008.
- 33) SALIBA, E.O.S., *et al.* Ligninas – métodos de obtenção e caracterização química. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 31, n. 5, p. 917-928, 2001.
- 34) SANTOS, F.A., *et al.* Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. *Química Nova*, Vol. 35, No. 5, 1004-1010, 2012.
- 35) SANTOS, M.C., *et al.* Principais tecnologias para produção de etanol anidro no Brasil. *Rev. Virtual Quim.*, Vol. 13, 2021.
- 36) SCHMAL, S. *Catálise heterogênea*. Rio de Janeiro (RJ), 2012.
- 37) SILVA, J.A. *Catálise enzimática na produção de etanol de segunda geração*. Tese (Conclusão de Curso), UFSJ, 2016.
- 38) SILVA, J.A. *et al.* Aplicação para a metodologia de planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta para a otimização da fermentação alcoólica. *Química Nova*, Vol. 35, No. 5, 1073-1077, 2008.
- 39) SUGANUMA, S., *et al.* Hydrolysis of cellulose by amorphous carbon bearing SO₃H, COOH, and OH groups. *Journal American Chemical Society*, 130, 12787–12793, 2008.
- 40) TAKAGAKI, A., *et al.* Glucose production from saccharides using layered transition metal oxide and exfoliated nanosheets as a water-tolerant solid acid catalyst. *Chemical communications*, 5363–5365, 2008.
- 41) TIAN, J., *et al.* Hydrolysis of cellulose by the heteropoly acid H₃PW₁₂O₄₀. *Cellulose*, 17:587–594, 2010.
- 42) TOMBINI, C., *et al.* Avaliação da capacidade inovativa e propriedade intelectual na utilização do bagaço de malte. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v.7, n.2, p 18973-18993, feb, 2021.