

**PRODUÇÃO DE ETANOL PELA FERMENTAÇÃO ANAERÓBICA DO  
GLICEROL/RESÍDUO DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA PELA BACTÉRIA  
*ESCHERICHIA COLI***

**ANA MARIA PESSETTE<sup>1,2\*</sup>, PRISCILA PAOLA DARIO<sup>1,2</sup>, KARINA RAMIREZ  
STARIKOFF<sup>1,2</sup>, ANDRÉ LAZARIN GALLINA<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza; <sup>2</sup>Grupo de Pesquisas em Energias Renováveis e Sustentabilidade da Universidade Federal da Fronteira Sul.

\*Autor para correspondência: anamariap7@hotmail.com

## **1. Introdução**

No processo de fabricação da cerveja, existe a formação de alguns resíduos. De acordo com os dados da Associação Brasileira de Indústrias Cervejeiras (CERVBRASIL), o Brasil é o terceiro produtor mundial de cerveja, considerando que para cada 100L produzidos gera-se cerca de 20 kg de resíduo<sup>[1]</sup>. O emprego deste material agrega valor e diminui o descarte inadequado.

Outro resíduo produzido em escala industrial é o glicerol, co-produto do processo de produção de biodiesel. A cada 100kg de biodiesel são gerados 10 kg de glicerol<sup>[2]</sup>. No Brasil, a lei 13.263, sancionada em 23 de março de 2016, obriga o acréscimo de 8% de biodiesel no diesel. A perspectiva é que seja de 10% em 2020<sup>[3]</sup>. Atualmente, a aplicação do glicerol é reduzida comparada com a disponibilidade deste álcool.

Assim, é necessário transformar resíduos em produtos viáveis economicamente. Conhecendo as propriedades químicas e físicas destes, pode-se utilizá-los como substrato para transformação microbiológica, obtendo-se produtos como o etanol de segunda geração. Os microorganismos utilizados podem ser bactérias, como a *Escherichia coli*, por exemplo<sup>[2]</sup>.

A produção de alcoóis através da fermentação microbiológica, utilizando como substratos resíduos de processos industriais, é promissora ambiental e economicamente.

## **2. Objetivo**

Produzir álcool utilizando a fermentação anaeróbica com *Escherichia coli*, com resíduo da indústria cervejeira e glicerol.

### **3. Metodologia**

#### **3.1. Caracterização físico-química dos substratos**

##### **3.1.1 Glicerol**

Foram realizados os seguintes ensaios: potencial hidrogenoiônico, utilizando um pHmetro de bancada marca MS Tecnopon e modelo mPA210; massa específica, com o auxílio de um densímetro de bancada marca Anton Paar e modelo DMA 35; cor e aspecto, de acordo com a Norma ANP nº310/2001.

##### **3.1.2 Resíduo cervejeiro**

Foram realizados os ensaios de fração de lipídios, teor de umidade e teor de cinzas, seguindo os métodos do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **3.3 Fermentação**

Utilizou-se quantidades de resíduo e glicerol em quantidade fixa (os valores foram suprimidos devido ao processo de proteção intelectual), adicionadas em balões de fundo redondo de 250 mL, que posteriormente foram acondicionadas em uma auto-clave por 40 minutos a uma temperatura de 127°C.

Em seguida, o inóculo, previamente preparado utilizando uma determinada cepa de *Escherichia coli* em meio de caldo *Escherichia coli*, foi adicionado nos balões utilizando o fluxo laminar previamente esterilizado. As amostras foram adicionadas em jarras anaeróbicas e inseridas na estufa microbiológica por um período de 48 horas na temperatura de 36 °C.

#### **3.4 Destilação**

Após o término da fermentação, o mosto foi destilado utilizando a destilação simples, numa temperatura entre 70° e 80° C.

#### **3.5 Quantificação do teor de álcool**

Para quantificação do teor de álcool seguindo o método descrito pela NBR 13920, utilizando o espectrofotômetro UV-VIS marca Thermo SCIENTIFIC e modelo EVOLUTION 201, em cubeta de quartzo com 1 cm de espessura, no comprimento de onda de 600 nm.

### **4. Resultados e Discussão**

#### **4.1 Análise físico-química do glicerol e resíduo cervejeiro**

O glicerol apresentou pH = 13,32, indicando caráter alcalino, sendo consequência do catalisador KOH utilizado para reação de transesterificação do biodiesel<sup>[4]</sup>. Massa específica 1,196 g.mL<sup>-1</sup>, cor âmbar e aspecto visual límpido e isento de impurezas, resultados dentro das especificações desta substância.

O resíduo cervejeiro apresentou teor de umidade 6,78% m/m, fração lipídica 1,10%

m/m e teor de cinzas 2,40% m/m, estes valores condizem com este tipo de resíduo de acordo com a literatura<sup>[5]</sup>.

### 4.3 Obtenção do teor de etanol

Para quantificação do teor de etanol foi realizada um curva de calibração, cuja regressão linear é  $y = 0,005 + 0,063.x$  com  $R^2 = 1,00$ . Após esta etapa foi realizada a quantificação do teor de álcool, conforme tabela 2.

**Figura 1. Teor de etanol em °GL, para as quantidades de resíduo e inoculo utilizados.**

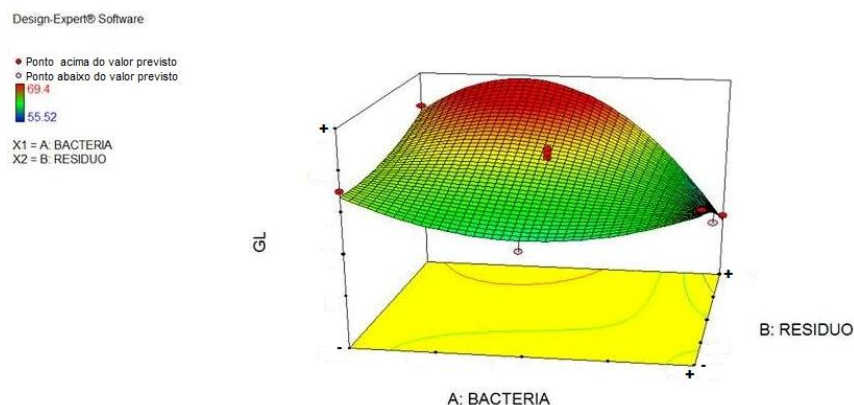
Ensaio	*Glicerol (g)	**Resíduo da indústria (g)	**Quantidade de inoculo (mL)	Etanol (°GL)
1	X	-	-	65,43
2	X	-	0	59,77
3	X	-	+	64,90
4	X	0	-	63,93
5	X	0	0	66,82
6	X	0	+	59,12
7	X	+	-	67,96
8	X	+	0	69,40
9	X	+	+	55,52

X refere-se a quantidade fixa de glicerol. \*\*Os índices -, 0, +, referem-se ao nível, menor, intermediário e maior, respectivamente.

De acordo com a figura 1, verifica-se o maior teor de álcool no ensaio 8. Os resultados foram analisados utilizando a tabela ANOVA para o modelo, sugerindo que o resíduo apresenta maior influência na produção de álcool, com um efeito de 4,82, enquanto o inoculo apresenta menor influência, com um efeito negativo de 2,41. Realizou-se esta análise estatística respeitando o p-valor de 0,05, apresentando significância estatística.

A partir do programa Design Expert® gerou-se a superfície de resposta dos dados de teor de álcool (figura 2), demonstrando os ensaios que produziram maior teor de etanol em relação à quantidade de inoculo e resíduo cervejeiro.

**Figura 2. Superfície de resposta dos ensaios contendo glicerol, resíduo cervejeiro e inoculo.**



De acordo com resultados, a quantidade de substrato influencia diretamente na produção de etanol, sendo que, a quantidade de bactéria para mais ou para menos, apresenta uma interferência menor. Desta maneira, nos próximos ensaios serão acrescentadas maiores quantidades de resíduo e uma quantidade intermediária de inóculo.

## 5. Conclusão

Foi possível produzir álcool utilizando resíduo da indústria cervejeira e glicerol através da fermentação utilizando a bactéria *Escherichia coli*, com um teor de álcool de aproximadamente 69° GL.

## REFERÊNCIAS

- [1] CERVBRAZIL, Associação Brasileira da Indústria da Cerveja, anuário 2015. Disponível em: <[www.cervbrasil.org.br/arquivos/ANUARIO\\_CB\\_2015\\_WEB.pdf](http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/ANUARIO_CB_2015_WEB.pdf)>. Acesso em: 10 de agosto de 2016.
- [2] KOVALSKI, Gláucia. Et al. **Produção de Etanol a partir da Fermentação de Resíduos Industriais**. Revista Tecnológica, Edição esp. 2014, p. 13-21, Maringá, 2015.
- [3] Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2015-2018/2016/lei/L13263.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2016/lei/L13263.htm)>. Acesso em: 17 de julho de 2017.
- [4] SEQUINEL, Rodrigo; OLIVEIRA, José Eduardo de; PEZZA, Leonardo. **Caracterização físico-química da glicerina proveniente de usinas de biodiesel e determinação de metanol residual por CG com amostragem por Headspace estático**. 2013. 103 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Estadual Paulista (unesp), Araraquara, 2013.
- [5] GARCIA, Daniely; ROBERTO, Inês Conceição. **Estudo da produção de etanol pela levedura *Pichia stipitis*, a partir do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de malte**. 2012. 153 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biotecnologia Industrial, Universidade de São Paulo, Lorena – Sp, 2012.

**Palavras-chave:** produção de álcool de segunda geração, fermentação, *Escherichia coli*.

## Fonte de Financiamento

Fundação Araucária.