

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
ESCOLA DE QUÍMICA

**Leonel Virginio Neri**  
**Tauan Pereira Cabral**



ESTADO DA ARTE DAS TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE  
VANILINA – ESTUDO DE CASO

RIO DE JANEIRO

2023

Leonel Virginio Neri  
Tauan Pereira Cabral

## ESTADO DA ARTE DAS TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE VANILINA – ESTUDO DE CASO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Químico Industrial e Engenheiro Químico

Orientador(es): Raquel Massad Cavalcante  
Rinaldo Farias da Luz  
André Ferreira Young

Rio de Janeiro  
2023

N445e Neri, Leonel Virginio, Cabral, Tauan Pereira  
ESTADO DA ARTE DAS TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE  
VANILINA - ESTUDO DE CASO / Leonel Virginio Neri,  
Tauan Pereira Cabral. -- Rio de Janeiro, 2023.  
59 f.

Orientadora: Raquel Massad Cavalcante.  
Coorientador: Rinaldo Farias da Luz, André  
Ferreira Young.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) -  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de  
Química, Bacharel em Química Industrial, Bacharel  
em Engenharia Química, 2023.

1. Vanilina. 2. Biossíntese. 3. Ácido ferúlico.  
4. Cana-de-açúcar. 5. Fermentação. I. Cavalcante,  
Raquel Massad, orient. II. Luz, Rinaldo Farias da,  
Young, André Ferreira, coorient. III. Título.

Leonel Virginio Neri  
Tauan Pereira Cabral

## ESTADO DA ARTE DAS TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE VANILINA – ESTUDO DE CASO

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Escola de Química da  
Universidade Federal do Rio de Janeiro,  
como parte dos requisitos necessários à  
obtenção do grau de Químico Industrial e  
Engenheiro Químico

Aprovado em 20 de julho de 2023.

---

Raquel Massad Cavalcante, DSc  
EQ - Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Rinaldo Farias da Luz, MSc.  
IMA, Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

André Ferreira Young, DSc.  
EQ - Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Yordanka Reyes Cruz, DSc.  
EQ - Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Henrique Plaudio Gonçalves Rangel, MSc.  
EQ - Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro  
2023

*“Quando a educação não é libertadora, o sonho do oprimido é se tornar o opressor.”*

*Paulo Freire*

## AGRADECIMENTOS

Demonstração de afeto por palavras e boa memória não são o meu forte, mas não poderia deixar de expressar minha gratidão aqui.

Ao meu pai Severino que infelizmente não está mais presente em corpo, mas que constantemente me perguntava “E aí, termina quando?” e sempre priorizou a educação minha e de meu irmão.

À minha mãe Francly, minha tia Raimunda e meu irmão Bruno pelo cuidado e apoio durante toda vida; respeitando meu tempo e me incentivando.

À minha psicóloga Flavia Lucchesi por ter me ajudado a conviver com o TDAH e assim a me conhecer mais e me culpar menos.

Às minhas escudeiras na UFRJ, Amanda e Camila; incansáveis em se doarem para que eu sempre fizesse o melhor período possível.

Aos amigos Aline, Joana, Patrícia, Eduardo, João Henrique, Júlio e Pedro pelas conversas, risadas, lágrimas e cervejas durante tantos anos.

Ao meu namorado Bruno por todo seu amor, carinho e paciência, sempre me lembrando da minha capacidade e torcendo pelo meu sucesso.

Ao meu ex-namorado Zender, companheiro durante a pandemia que com seu amor permitiu que eu não surtasse (muito) e não desistisse da faculdade.

Aos meus gatos Lady, Barão e Hal que muitas vezes foram minha companhia em madrugadas mal dormidas estudando e fazendo trabalho e que nunca deixam eu me sentir sozinho.

À Yasmin, Henrique, Isabelle, Raquel, Gabriel e Laiza, amigos que a UFRJ me deu a honra de conhecer e que estavam do meu lado e me ajudaram a superar os momentos mais difíceis que tive na instituição.

A todos colegas de Petrobras, principalmente meu gerente Lindemberg, pela compreensão e ajuda durante períodos que o tempo era escasso.

Ao Tauan por dividir comigo esse *sprint* final colaborando no que pôde para a elaboração deste TCC, sendo razão quando eu queria ser pura emoção.

E como diria Anitta, agradeço a mim mesmo que mesmo depois de tantos anos, tantos obstáculos, tantas dúvidas (minhas e de outras pessoas) e de duas matrículas persisti até a entrega deste trabalho de conclusão de curso.

Valeu gente!!!

Leonel Virginio Neri

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiro, gostaria de agradecer a Deus, pelo dom da vida. Sem Ele nada seria possível.

Ao meu irmão, Miguel, que talvez nunca leia essa página de agradecimento, mas que sempre foi o meu motor impulsionador para seguir adiante.

Aos meus pais Ednaldo e Carla, por todo seu amor, carinho e suporte. Obrigado por serem a base que me proporcionou dar este e todos os outros passos.

À minha namorada Beatriz, que com sua leveza e doçura soube ser acalanto nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos Willer e Tainá, por dividirem a caminhada comigo. Eu sou o que sou pelo que nós somos.

Ao Leonel, que foi a dupla que dividiu essa longa jornada do Trabalho de Conclusão de Curso. Obrigado por estar sempre disponível e fazer com que tenha sido o mais leve possível.

Aos meus orientadores, Raquel, Rinaldo e André, que além de serem profissionais excepcionais, são seres humanos ímpares. Vocês foram essenciais para que esta jornada pudesse chegar ao fim.

Tauan Pereira Cabral

## RESUMO

NERI, Leonel Virginio; CABRAL, Tauan Pereira. **Estado da arte das tecnologias de produção de Vanilina – Estudo de caso**. Rio de Janeiro, 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial e Engenharia Química) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Por séculos, especiarias como a baunilha têm capturado o fascínio da humanidade. Este composto, empregado desde a era asteca, mantém sua importância em diversas indústrias modernas, incluindo farmacêutica, cosmética e alimentícia. Contudo, a expansão demográfica mundial intensificou a demanda por alimentos, bens de consumo e serviços, tornando cada vez mais escassa e cara a obtenção da baunilha natural, cuja produção manual é de difícil escalabilidade, o que aumenta o desafio. Uma solução alternativa envolve o uso da vanilina, o principal componente responsável pelas características da baunilha, que pode ser sintetizada por meio de múltiplas rotas, permitindo maior escalabilidade e possível redução de custos. Desta forma, este Trabalho de Conclusão de Curso apresenta uma revisão abrangente e sistêmica da literatura com foco nos processos de síntese da vanilina, mostrando 3 (três) maneiras de obtenção de vanilina, que são: extração vegetal, síntese química e biossíntese. O objetivo principal foi propor um método para a produção de vanilina a partir do ácido ferúlico presente no bagaço de cana, uma vez que este representa, aproximadamente, 2% da massa do bagaço. O processo proposto pode ser subdividido em uma etapa de pré-tratamento do bagaço de cana, uma vez que esse bagaço é resíduo da indústria álcooleira; extração alcalina, onde o ácido ferúlico é obtido; scale-up, etapa em que há o crescimento bacteriano; e biorreação, onde ocorre a reação propriamente dita.

**Palavras-chave:** vanilina; biossíntese; ácido ferúlico; bagaço, cana-de-açúcar; fermentação.



## ABSTRACT

NERI, Leonel Virginio; CABRAL, Tauan Pereira. **Estado da arte das tecnologias de produção de Vanilina – Estudo de caso**. Rio de Janeiro, 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial e Engenharia Química) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

For centuries, spices like vanilla have captured mankind's fascination. This compound, used since the Aztec era, maintains its importance in several modern industries, including pharmaceuticals, cosmetics, and food. However, the world's demographic expansion has intensified the demand for food, consumer goods and services, making it increasingly scarce and expensive to obtain natural vanilla, whose manual production is difficult to scale, which increases the challenge. An alternative solution involves the use of vanillin, the main component responsible for the characteristics of vanilla, which can be synthesized through multiple routes, allowing greater scalability and possible cost reduction. Thus, this Course Completion Work presents a comprehensive and systemic review of the literature focusing on vanillin synthesis processes, showing 3 (three) ways of obtaining vanillin, which are: plant extraction, chemical synthesis, and biosynthesis. The main objective was to propose a method to produce vanillin from ferulic acid present in sugarcane bagasse, since this represents approximately 2% of the bagasse mass. The proposed process can be subdivided into a stage of pre-treatment of sugarcane bagasse, since this bagasse is residue from the alcohol industry; alkaline extraction, where ferulic acid is obtained; scale-up, stage in which there is bacterial growth; and bioreaction, where the reaction itself takes place.

**Keywords:** vanillin; biosynthesis; ferulic acid; bagasse, sugarcane; fermentation.

**SUMÁRIO**

<b>1.</b>	<b>Introdução</b>	<b>16</b>
<b>2.</b>	<b>Objetivos</b>	<b>20</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivos gerais</b>	<b>20</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b>	<b>20</b>
<b>3.</b>	<b>Metodologia</b>	<b>20</b>
<b>4.</b>	<b>Revisão bibliográfica</b>	<b>21</b>
<b>4.1.</b>	<b>Mercado de orgânicos</b>	<b>21</b>
<b>4.2.</b>	<b>Mercado de vanilina</b>	<b>22</b>
<b>4.3.</b>	<b>Obtenção de vanilina</b>	<b>25</b>
<b>4.3.1.</b>	<b>Extração natural</b>	<b>25</b>
<b>4.3.2.</b>	<b>Síntese de vanilina a partir da oxidação da lignina</b>	<b>28</b>
<b>4.3.3.</b>	<b>Síntese de vanilina a partir do eugenol e isoeugenol</b>	<b>33</b>
<b>5.</b>	<b>Biossíntese</b>	<b>36</b>
<b>5.1.</b>	<b>Matéria-prima</b>	<b>37</b>
<b>5.1.1</b>	<b>Cana-de-Açúcar</b>	<b>38</b>
<b>5.1.2</b>	<b>Bagaço da Cana-de-Açúcar</b>	<b>39</b>
<b>5.2</b>	<b>Síntese de vanilina por rota fermentativa</b>	<b>41</b>
<b>6.</b>	<b>Discussão da Proposta do Trabalho de Conclusão de Curso</b>	<b>43</b>
<b>6.1</b>	<b>Processo de produção</b>	<b>45</b>
<b>6.1.1</b>	<b>Pré-tratamento</b>	<b>45</b>
<b>6.1.2</b>	<b>Extração alcalina</b>	<b>46</b>
<b>6.1.3</b>	<b>Scale-up</b>	<b>49</b>
<b>6.1.4</b>	<b>Biorreação</b>	<b>49</b>
<b>6.2</b>	<b>Fluxograma</b>	<b>50</b>
<b>7.</b>	<b>Considerações finais</b>	<b>53</b>
<b>8.</b>	<b>Referência Bibliográficas</b>	<b>54</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Estrutura molecular da Vanilina -----	16
Figura 2: Mercado consumidor global de vanilina em 2020 -----	24
Figura 3: As orquídeas trepadeiras da espécie <i>V. planifolia</i> e suas flores -----	26
Figura 4: Polinização manual da flor da orquídea <i>V. planifolia</i> -----	27
Figura 5: Produção de vanilina por meio das etapas de cura das favas de <i>Vanilla planifolia</i> -----	28
Figura 6: Esquema do processo de obtenção de concentrado de lignosulfonato para produção de vanilina -----	29
Figura 7: Mecanismo proposto para a obtenção de oxidação de lignina proposto ----	30
Figura 8: Perfil de vanilina durante a oxidação com oxigênio molecular em solução aquosa de NaOH em diferentes condições de operação -----	31
Figura 9: Obtenção de lignina purificada a partir de concentrado de lignina com acidificação e extração por solvente orgânico para a produção de vanilina -----	32
Figura 10: Obtenção de vanilina a partir da lignina acidificada seguido pelo e processo de extração por adsorção -----	32
Figura 11: Reação de obtenção da vanilina a partir do eugenol, tendo isoeugenol como intermediário -----	34
Figura 12: Mecanismo de obtenção da vanilina a partir do eugenol, tendo ácido ferúlico como intermediário -----	35
Figura 13: resultado da obtenção de vanilina e coprodutos com a adição de isoeugenol com cultura bacteriana de <i>Bacillus pumilus</i> -----	36
Figura 14: Estrutura molecular do ácido ferúlico -----	37
Figura 15: Fluxograma de produção de etanol e sacarose -----	40
Figura 16: Fluxograma geral para produção ode vanilina a partir de Ácido Ferúlico --	44
Figura 16a: Etapa de pré-tratamento do fluxograma proposto para obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico -----	45
Figura 16b: Etapa extração alcalina do fluxograma proposto para obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico -----	46
Figura 16c: Etapa de neutralização do fluxograma proposto para obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico -----	48
Figura 16d: Etapa de Scale-up do fluxograma proposto para obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico -----	49
Figura 16e: Etapa de biorreação do fluxograma proposto para obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico -----	50

<b>Figura 16f: Etapa de concentração do fluxograma proposto para obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico -----</b>	<b>52</b>
<b>Figura 17: Centrífuga decanter Flottweg -----</b>	<b>47</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Propriedades físico-químicas da vanilina -----	16
Tabela 2: Teor de ácido ferúlico presente na parede celular vegetal de algumas matérias-primas -----	38
Tabela 3: microrganismos promissores para biossíntese de vanilina -----	42

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Microrganismos promissores para biossíntese de vanilina -----	42
---	----

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Expectativa do crescimento do mercado de comida orgânica norte americana (bilhões de dólares) -----	21
Gráfico 2: Produção mundial em toneladas de vanilina orgânica para os produtores mais relevantes de vanilina orgânica -----	23
Gráfico 3: Expectativa de valor movimentado em milhões de dólares pelo mercado de baunilha -----	24

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

USD	Dólar Americano
CAGR	Taxa de crescimento anual composto
<i>V. planifolia</i>	<i>Vanilla planifolia</i>
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
TPBB	Biorreator de duas fases
HEPA	Alta Eficiência na Retenção de Partículas

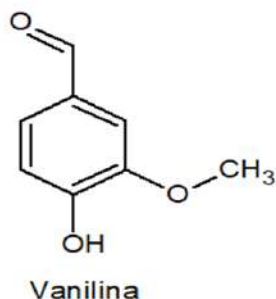
**LISTA DE SÍMBOLOS**

%	Por cento
°C	Graus Celsius
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	Cloreto de cálcio hidratado
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
g/Kg	Gramas por quilo
g/L	Grama por litro
H	Hidrogênio
h	Horas
hPa	Hectopascal
K	Kelvin
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato monopotássico
KOH	Hidróxido de potássio
M	Molar (mol por mol)
mg/L	Miligramas por Litro
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Sulfato de magnésio hidratado
mL	Mililitros
mmHg	Milímetros de mercúrio
n°	Número
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Fosfato dissódico
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
O <sub>2</sub>	Gás oxigênio
OH	Hidroxila
Pa	Pascal (Newton por metro quadrado)
pO <sub>2</sub>	Pressão parcial de oxigênio
rpm	Rotações por minuto

## 1. Introdução

A vanilina (4-hidróxi-3-metoxibenzaldeído) é um composto orgânico amplamente utilizado na indústria alimentícia como aromatizante artificial de baixo custo, responsável pelo sabor e aroma característicos da baunilha. Conforme a Figura 1, sua molécula é caracterizada pelos grupos funcionais aldeído, éter e fenol (BANERJEE; CHATTOPADHYAY, 2018).

**Figura 1:** Estrutura molecular da Vanilina.



**Fonte:** LAMPMAN, et. al., 1977.

Este composto é um pó cristalino branco a amarelo claro, com odor adocicado e intenso sendo solúvel em álcool, glicerol e água quente, mas pouco solúvel em água fria. Outras propriedades da vanilina podem ser observadas na Tabela 1.

**Tabela 1:** Propriedades físico-químicas da vanilina

Propriedade	Valor
Estado físico	Sólido a 20 °C
Peso molecular	152,15 g/mol
Ponto de fusão	80 – 83 °C
Ponto de ebulição	285 °C
Solubilidade em água	1g/100 mL
Densidade	1,053 g/mL
Pressão de vapor	0,0022 mmHg a 25 °C
<i>Flash point</i>	160 °C a 1022 hPa
Sistema Cristalino	Monoclínico
Forma	Pó cristalino

**Fonte:** Adaptado de CONVERTI *et al*, 2010; PAUL *et al*, 2021.



Originalmente, a vanilina natural<sup>1</sup> é produzida a partir da conversão de glicovanilina durante as várias etapas do processo de cura de favas da orquídea *Vanilla planifolia* (JIANG, W. *et al.*, 2023; MA, Q. *et al.*, 2022; LI; FROST, 1998).

Os astecas, que viveram no território do atual México, são creditados como os primeiros a utilizarem o sabor de baunilha<sup>2</sup> na história humana, por volta do ano de 1300. Eles empregavam os frutos da orquídea da baunilha para conferir aroma e sabor, inclusive ao chocolate. O uso desses frutos pode ser rastreado até o ano de 1520, quando os espanhóis chegaram ao México. Os colonizadores encontraram os astecas utilizando a baunilha para dar sabor a uma bebida que se acredita ser a precursora do chocolate quente moderno. O sabor da baunilha impressionou os espanhóis, que levaram os frutos para a Europa. Como o aumento da demanda por baunilha na Espanha, França e no resto da Europa, a orquídea da baunilha *V. planifolia* foi domesticada (GALLAGE & MØLLER, 2015).

Somente em 1858 o bioquímico francês Nicolas-Theodore Gobley conseguiu isolar a vanilina do extrato de baunilha através de cristalização, a partir dos grãos de baunilha. E, em 1874, os cientistas alemães Ferdinand Tiemann e Wilhelm Haarmann determinaram sua estrutura e sintetizaram-na a partir do coniferina, um componente da casca de pinheiro (VANILLIN, 2016). Desde então, a vanilina se tornou um dos principais aromatizantes utilizados em todo o mundo.

Devido ao seu sabor e aroma distintos, a vanilina é amplamente utilizada em produtos alimentícios, como sorvetes, bolos, biscoitos, chocolates, bebidas, entre outros (PAUL *et al.* 2021). Mas também tem sido objeto de estudos por suas possíveis propriedades terapêuticas. Estudos têm demonstrado que a vanilina possui propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, além de ter potencial como agente antitumoral e anti-hipertensivo (KIM *et al.*, 2015), apresentando a vanilina como uma opção potencialmente promissora para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas.

No entanto, é importante notar que a vanilina não possui os mesmos compostos e propriedades benéficas que a baunilha natural já que esta é constituída por vários compostos bioativos que também têm sido associados a

---

<sup>1</sup> Neste trabalho, o termo "vanilina natural" será utilizado para denotar o produto obtido naturalmente, seja na forma de vagem de baunilha ou como extrato desta, acompanhado de seus respectivos componentes integrantes.

<sup>2</sup> O aroma de baunilha é proveniente, usualmente, da *Vanilla planifolia*. Já a vanilina, consiste no composto orgânico produzido de maneira sintética.

benefícios para a saúde, como ação antioxidante e anti-inflamatória (VIJAYALAKSHMI *et al.*, 2019).

Neste contexto, vale lembrar que a obtenção da vanilina pela cura da orquídea *Vanilla planifolia* em larga escala é comercialmente restrita devido às variações climáticas que interferem no cultivo das favas de baunilha, necessidade de polinização manual das flores, longos períodos de cura e baixo rendimento do produto (PAUL *et al.*, 2021). E que o cultivo de favas de baunilha, atende-se apenas 2.000 toneladas de uma demanda mundial superior a 15.000 toneladas (CHEE *et al.*, 2016).

Portanto, os métodos sintéticos para a produção de vanilina representam uma alternativa viável para a produção em larga escala desse composto. Esses são capazes de produzir vanilina com altos graus de pureza e rendimento e, portanto, mais econômicos do que a extração natural de favas de baunilha.

Além disso, a vanilina sintética oferece diversas vantagens em relação à vanilina natural, tais como maior uniformidade e consistência no sabor, o que é importante para manter a qualidade e padronização do produto na indústria alimentícia (VIJAYALAKSHMI *et al.*, 2019). E maior estabilidade que a vanilina natural, permitindo uma vida útil mais longa e menor influência as variações de temperatura e umidade (CLARENSIA *et al.*, 2021).

A produção em larga escala da vanilina sintética pode ajudar, ainda, a reduzir a pressão sobre as fontes naturais de vanilina, que estão sendo cada vez mais exploradas. A extração excessiva de vanilina natural pode resultar em danos ambientais e pode ser insustentável a longo prazo. Desta forma, produzir vanilina por rotas sintéticas, pode contribuir para a sustentabilidade ambiental e preservação da biodiversidade, além de ser atraente do ponto de vista econômico (MUTTALIB, 2014).

No entanto, é importante ressaltar que há aspectos desfavoráveis a serem considerados no uso das rotas de síntese. Por exemplo, a possibilidade de contaminação com compostos químicos indesejados durante o processo de síntese. Também há possibilidade de produtos indesejados ou mesmo tóxicos serem gerados por reações secundárias que ocorrem durante a síntese (PAUL *et al.* 2021). Ademais, a aplicação de vanilina sintética é limitada em certos segmentos da indústria, uma vez que esta inclui misturas racêmicas que têm potencial para ocasionar problemas de saúde. (BANERJEE; CHATTOPADHYAY, 2018).

Por fim, a produção sintética de vanilina também pode enfrentar desafios regulatórios. Embora a vanilina sintética seja geralmente considerada segura para uso em alimentos, pode haver preocupações regulatórias em relação aos compostos secundários produzidos durante a síntese ou a contaminação com outros produtos químicos (VIJAYALAKSHMI *et al.*, 2019). Isso pode levar a restrições regulatórias ou a uma maior vigilância por parte das autoridades regulatórias.

Portanto, há o crescimento da demanda por um produto idêntico ao natural, mais saudável para o uso na indústria alimentícia e com custos produtivos reduzidos, por isso as rotas de síntese biotecnológicas passaram a ter maior foco de investigação (BANERJEE; CHATTOPADHYAY, 2018). Existem três tipos de abordagem para a obtenção de vanilina por vias biotecnológicas. Em primeiro lugar, apesar de promover baixo rendimento de conversão, o uso de tecidos de plantas capazes de sintetizar vanilina como um metabólito secundário, assim como se observa em culturas de células *Capsicum frutescens*, como genes que expressam a enzima vanilina sintase (CHEE *et al.*, 2016). Uma segunda abordagem envolve a utilização de enzimas isoladas para a biossíntese de vanilina a partir de diferentes substratos. Por fim, a abordagem que tem ganhado maior atenção, devido à disponibilidade de microrganismos, baseia-se em processos fermentativos relacionados às atividades metabólicas de fungos, bactérias e de células geneticamente modificadas (PAUL *et al.*, 2021). Vale ressaltar que, para a produção de vanilina de caráter alimentício, o microrganismo utilizado deve ser não patogênico a humanos e animais e deve ser usado em um laboratório de nível de biossegurança 1 (BANERJEE; CHATTOPADHYAY, 2018).

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivos gerais

O objetivo deste Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) consiste em realizar uma revisão bibliográfica ampla e sistêmica sobre as metodologias utilizadas na obtenção da vanilina, a fim de identificar uma rota que gere um produto de elevado grau de pureza, elevado rendimento e que provenha de uma fonte sustentável.

### 2.2 Objetivos específicos

- Compreender em quais mercados a vanilina está presente e como estes mercados demandam sua produção.

- Identificar rotas de obtenção de vanilina, bem como sua viabilidade em processos de larga escala.

- Apresentar uma proposta de rota para produção em larga escala de vanilina sintética que esteja em consonância com a realidade brasileira.

## 3. Metodologia

Este trabalho utilizou-se algumas plataformas eletrônicas, como periódico CAPES, Science Direct, livros bases e outros, para que fosse reunido material suficiente para estabelecer uma visão detalhada a respeito da produção da vanilina, segundo proposto por Markoni e Lakatos, 2007.

Foi realizada a busca com foco nos conceitos fundamentais sobre a vanilina (estrutura química), seus processos de obtenção e sua aplicação a partir das taxonomias *vanilin*, *process of vanillin production*, *ferulic acid*. Não foi restrito um espaço temporal para a realização do levantamento. Sobre a aplicação e mercados, foco foi em identificar os maiores consumidores e como este mercado impacta na seleção dos processos de obtenção, suas principais variáveis e grau de pureza da vanilina.

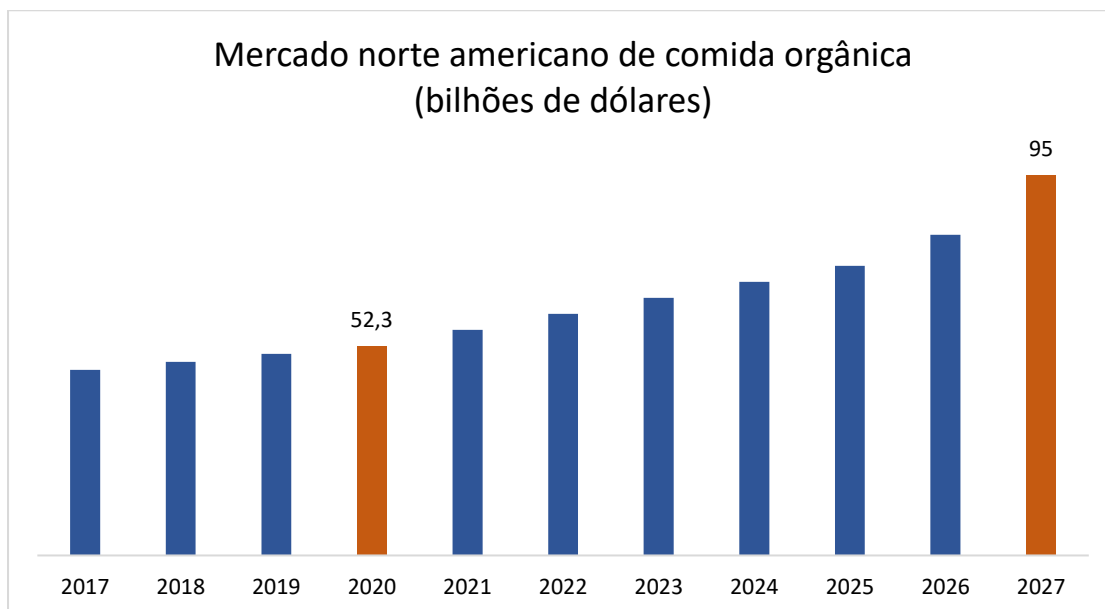
## 4. Revisão bibliográfica

### 4.1. Mercado de orgânicos

De acordo com Raghava e Anupam (2021) o aumento da obtenção de produtos orgânicos está diretamente ligado ao aumento de consciência com a saúde dos indivíduos. Com a mudança de comportamento social, o mercado de orgânicos vem crescendo, uma vez que as pessoas cada vez mais buscam consumir produtos que sejam mais saudáveis, com menor uso de pesticidas e outros produtos químicos agrícolas.

Segundo a *Organic Trade Association*, entre 2020 e 2021, o mercado de orgânicos movimentou 63 bilhões de dólares por ano, onde 90% desse valor é relativo aos mercados de comidas e bebidas (OIS, 2022). Para o mercado norte americano, a *BlueWeave Consulting* projeta que em 2027 o mercado possa movimentar 97 bilhões de dólares, conforme mostrado no Gráfico 1 (U.S. ORGANIC FOOD MARKET, 2022).

**Gráfico 1:** Expectativa do crescimento do mercado de comida orgânica norte americana (bilhões de dólares).



**Fonte:** U.S. ORGANIC FOOD MARKET, 2022

No Brasil, um produto pode ser considerado orgânico, se atender a Lei Federal nº 10.831 de 23 de dezembro de 2003, que amarra uma série de normas

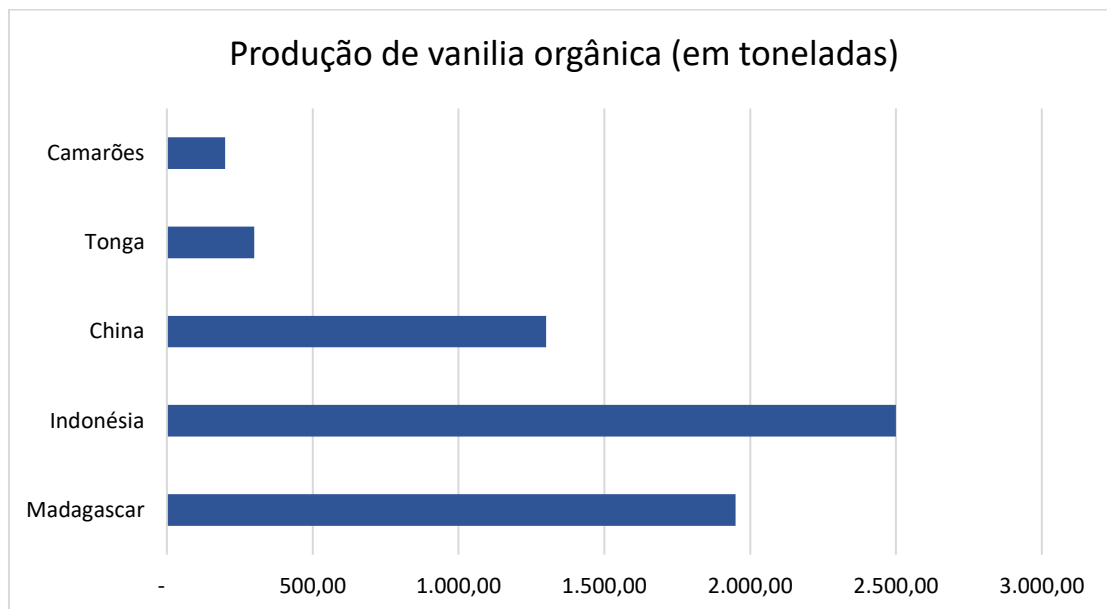
e técnicas relacionadas ao processamento, envase, distribuição, tipificação e certificação de qualidade.

De acordo com a lei supracitada, considera-se sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não renovável, empregando. E acrescenta que, sempre que possível métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente permitem enquadrar o processo como orgânico.

#### **4.2. Mercado de vanilina**

Devido a sua alta aplicação e demanda na indústria alimentícia, nem sempre a produção de origem natural é suficiente para atender a demanda do mercado. Em 2016, o preço de mercado da baunilha natural pulou de USD 200 para USD 400, o que é cerca de 10 a 20 vezes maior que o preço em 2006 (USD 20) (CHEE *et al.*, 2016). Além disso, grande parte da oferta mundial de origem natural vem do cultivo em Madagascar e Indonésia, as duas maiores fontes produtoras de vanilina natural, como se pode observar no Gráfico 2. Este cenário apresenta preocupações relacionadas a centralização do preço, oferta dependente de condições climáticas políticas econômicas frágeis.

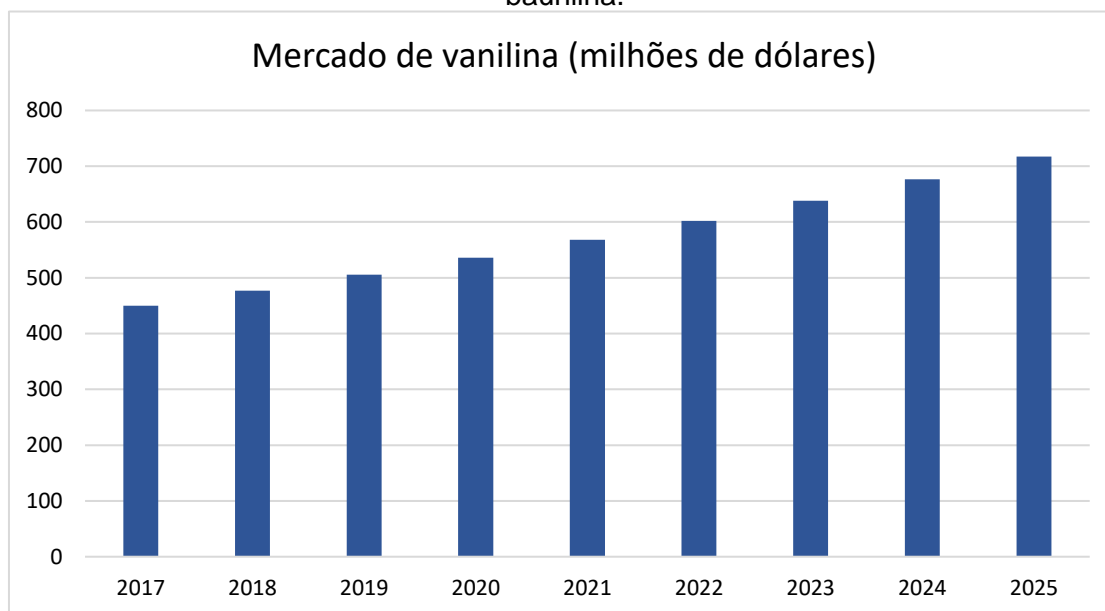
**Gráfico 2:** Produção mundial em toneladas de vanilina orgânica para os produtores mais relevantes de vanilina orgânica.



**Fonte:** MARTAU; CALINOIU; VODNAR, 2021.

A produção de vanilina de origem natural é cerca de 2000 toneladas, o que é, aproximadamente, 7 vezes menor do quando comparado com de origem sintética. Na perspectiva de mercados consumidores, é possível elencar uma grande variedade, dentre eles: comidas, bebidas, farmacêutico, polímeros e outros. A *Grand View Research, Inc* (GVR) estimou um crescimento de aproximadamente 6% ao ano entre 2017 e 2025, ano em que o valor movimentado em vendas chegaria a aproximadamente 725 milhões de dólares, como mostra verificar no Gráfico 3 (JIANG,W., *et al*, 2023; GVR, 2022).

**Gráfico 3:** Expectativa de valor movimentado em milhões de dólares pelo mercado de baunilha.



**Fonte:** *Grand View Research, Inc GVR, 2022.*

A despeito da grande movimentação envolvendo o mercado de vanilina, o mercado consumidor concentra-se na região Ásia-Oceania e Pacífico, como mostra na Figura 2.

**Figura 2:** Mercado consumidor global de vanilina em 2020.



**Fonte:** MERCADO DE VANILINA, 2022.

O segmento de comidas e bebidas, especialmente o mercado de sorvetes e chocolates, é responsável por parcela significativa da demanda. Contudo, assim como uma mudança no comportamento social que impulsionou o crescimento da produção de baunilha, a procura por produtos de origem orgânica vem ganhando cada vez mais relevância. Dada a dificuldade no aumento de escala da produção de



baunilha orgânica devido à sensibilidade inerente ao processo e crescente demanda por produtos de origem orgânica, os preços tendem a crescer (GVR, 2022).

A conjuntura entre a produção de vanilina orgânica e sintética no panorama mundial demonstra um evidente desequilíbrio. Constata-se que menos de 1% do consumo mundial é atendida pela produção orgânica, um fato atribuído à complexidade inerente ao processo de produção desse tipo. Concomitantemente, observa-se que o mercado global de baunilha apresenta perspectivas promissoras, com um CAGR (*Compound Annual Growth Rate*) estimado em 6% para o período de 2021 a 2026. Quando confrontados esses dois indicadores - a produção de origem natural de vanilina no âmbito mundial e a tendência de crescimento do mercado de baunilha - a projeção é de um incremento na produção sintética de vanilina nos próximos anos (MERCADO DE VANILINA, 2022).

### **4.3. Obtenção de vanilina**

#### **4.3.1. Extração natural**

Como já mencionado anteriormente, a baunilha (que contém vanilina) pode ser obtida de forma natural, através da extração do fruto de uma orquídea: a *Vanilla planifolia*. A *Vanilla planifolia*, uma trepadeira perene e orquídea, é amplamente utilizada na produção da baunilha natural, respondendo por cerca de 95% da produção global de baunilha, sendo esta conhecida por sua mistura complexa de sabores (GALLAGE & MØLLER, 2015; GALLAGE & MØLLER, 2017). Mais de duzentos compostos são responsáveis pelas características de sabor e aroma do extrato de baunilha. A vanilina, principal composto responsável pelo sabor característico, representa apenas uma concentração de 1% a 2% em peso seco nas favas de baunilha (GALLAGE & MØLLER, 2015).

A *Vanilla planifolia* apresenta um caule carnudo, suculento e verde. Suas folhas são retangulares, lisas e verde-claras, e possuem raízes aéreas adventícias que surgem opostas a cada folha, auxiliando no suporte lateral. A Figura 3 mostra as orquídeas trepadeiras da espécie *V. planifolia* e suas flores. Apesar da ampla utilização e do sabor característico, a bioquímica da baunilha ainda é pouco compreendida. Há uma lacuna na literatura sobre os polinizadores naturais das espécies de orquídeas de baunilha (GALLAGE & MØLLER, 2017). Além disso, a germinação e o crescimento das sementes dependem da simbiose com fungos, cujas

interações são ainda pouco compreendidas. A relação simbiótica entre a *Vanilla planifolia* e os fungos ocorre por meio do acesso do fungo aos açúcares produzidos pela fotossíntese da planta e da capacidade da orquídea de obter água e minerais através do micélio do fungo. (GALLAGE & MØLLER, 2017).

**Figura 3:** As orquídeas trepadeiras da espécie *V. planifolia* e suas flores.



**Fonte:** GALLAGE & MØLLER, 2017.

Neste contexto, é relevante destacar que a curta longevidade dessas flores das orquídeas trepadeiras da espécie *V. planifolia* implica em um período de existência limitado a um intervalo de tempo de 24 horas, iniciado no momento da sua abertura. Apesar de apresentarem órgãos reprodutivos femininos e masculinos, as flores da *V. planifolia* não possuem a capacidade de se autopolinizar. Devido à limitação imposta pela morfologia floral, alguns insetos podem ter dificuldade em realizar a polinização; assim, na natureza, a polinização pode ser executada por agentes como abelhas e beija-flores, que possuem habilidades para penetrar a membrana que separa o pistilo e o estame da planta (GALLAGE & MØLLER, 2017).

Os agentes naturais apresentaram-se como um desafio significativo para o sucesso da produção em larga escala da *V. planifolia* em regiões fora de seu habitat natural. Para exemplificar o México, atualmente, o processo de polinização manual, conforme mostra a Figura 4, ainda é empregado na produção de baunilha, o que mostra não ter sofrido grandes avanços significativos no modelo de polinização desde 1841 (WICHNER, 2018; GALLAGE & MØLLER, 2017).

**Figura 4:** Polinização manual da flor da orquídea *V. planifolia*



Fonte: WICHNER, 2018.

De dez a quinze semanas após a polinização, a fava, que é uma espécie de cápsulas de semente, atinge seu tamanho máximo. Com cerca de 15 cm de comprimento e coloração que varia de verde-claro a amarelo, as favas completamente desenvolvidas possuem sementes pretas com um funículo longo e fino, que estão alojadas na cavidade da fava (GALLAGE & MØLLER, 2017).

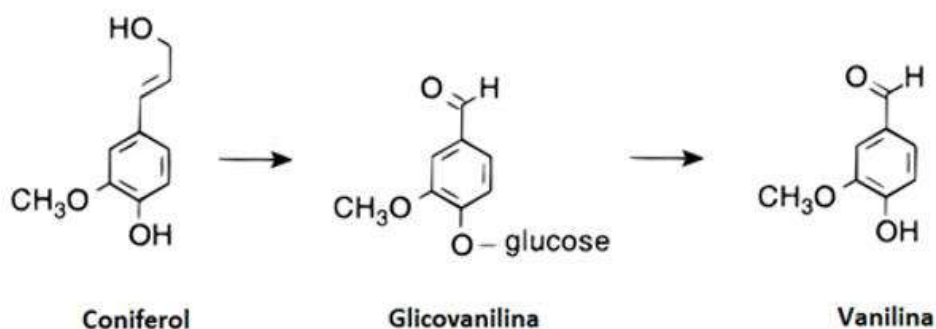
Antes das favas começarem a se abrir e adquirir coloração amarelada, a baunilha é colhida com 8 a 9 meses de idade. Os elementos essenciais de sabor são preservados como glicosídeos, as favas verdes e imaturas de baunilha são essencialmente inodoras. Para inibir o processo vegetativo natural das favas recém-colhidas é empregado o processo de cura<sup>3</sup> em seu processamento que confere cor escurecida à fava e inibe o crescimento microbiano, permitindo que as favas de baunilha sejam preservadas por um longo período (GALLAGE & MØLLER, 2017).

A cura também promove a produção das enzimas necessárias para os componentes aromáticos do sabor da baunilha, como a vanilina conforme observado na Figura 5 (LI; FROST, 1998).

---

<sup>3</sup> A cura representa um processo fisiológico que ocasiona a interrupção da função respiratória nos tecidos vegetais, culminando na ruptura das membranas celulares. Tal ruptura propicia um ambiente ideal para a interação entre determinados metabólitos e enzimas, que atuam no processo de liberação de compostos aromáticos. De forma típica, essa ação é caracterizada pela catalisação da hidrólise de uma ligação glicosídica. No processo de cura da baunilha frequentemente são realizados procedimentos como o murchamento, desidratação e secagem para então serem devidamente armazenadas. Diferentes técnicas de cura podem ser utilizadas dependendo do país onde as plantas são cultivadas (GALLAGE & MØLLER, 2017).

**Figura 5:** Produção de vanilina por meio das etapas de cura das favas de *Vanilla planifolia*.



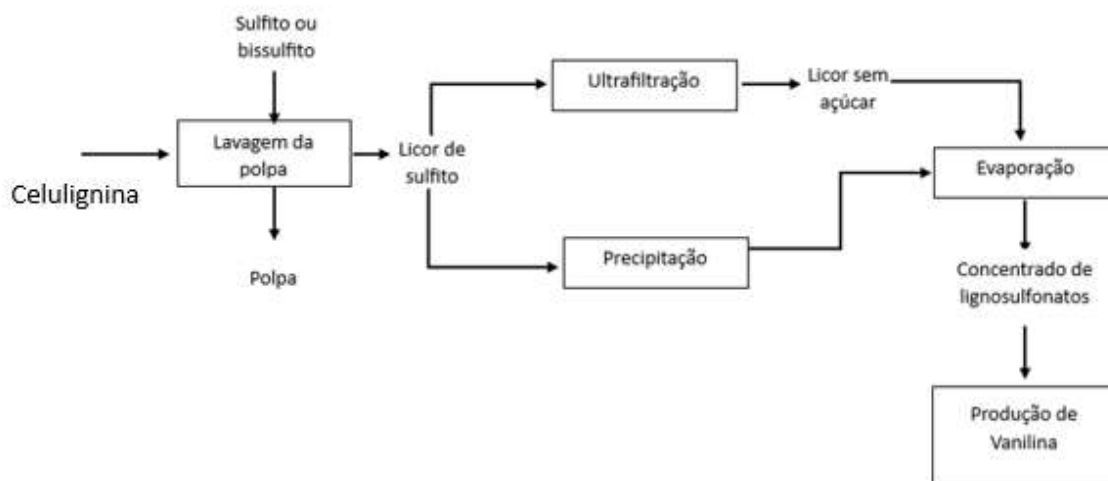
Fonte: LI; FROST, 1998

A baunilha pode ser comercializada tanto em fava como em extrato natural, produzido por cultivadores de baunilha por uma extração alcoólica das favas maduras e curadas (GALLAGE & MØLLER, 2017).

#### 4.3.2. Síntese de vanilina a partir da oxidação da lignina

Grande parte da oferta de lignina vem da formação de subprodutos dos processos produtivos de papel e celulose. Pela quantidade gerada, grande parte da lignina é queimada para gerar energia que retroalimentar o processo. De modo generalizado, a obtenção de lignina pode ser dividida em três tipos: *sulphite pulping*, *kraft pulping* e *soda pulping*. Apesar de não ser o processo produtivo mais usual para a extração de lignina, o *sulphite pulping* é relevante para a produção de vanilina. O *sulphite pulping* da lignina consiste na digestão por sulfito de sódio, magnésio ou cálcio a 170 °C, aproximadamente, como demonstrado no esquema da Figura 6 (BELGNACEN; GANDINI, 2008).

**Figura 6:** Esquema do processo de obtenção de concentrado de lignosulfonato para produção de vanilina

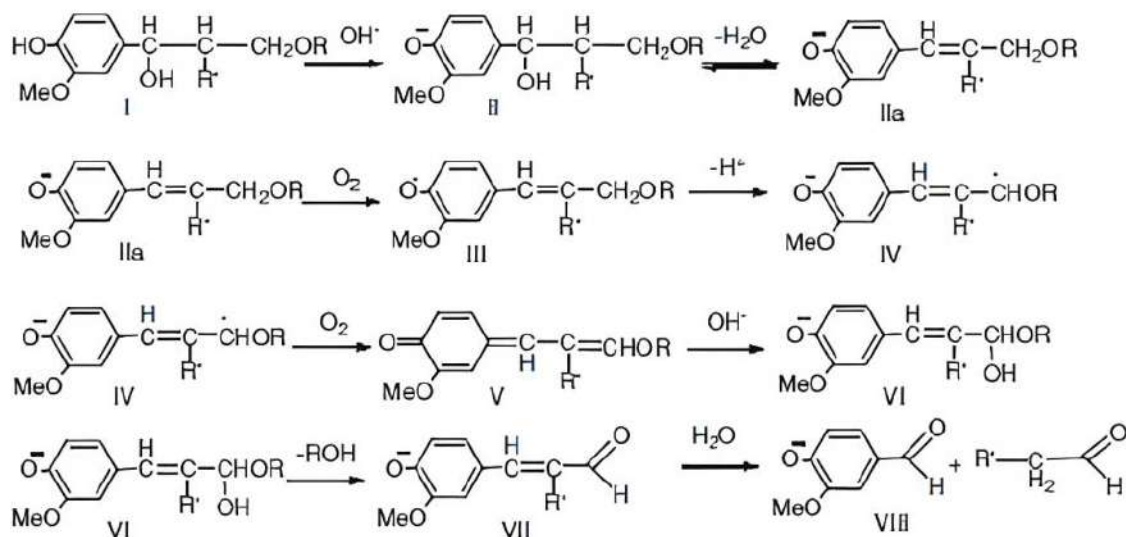


**Fonte:** BELGACEN; GANDINI, 2008

O processo de obtenção de vanilina a partir da lignina é resultante da oxidação da solução aquosa gerada pelo processo representado na Figura 6. Estudos para a oxidação da lignina já foram realizados com nitrobenzeno, promovendo taxas de conversão elevadas. Óxido e sulfato de cobre também aparecem na literatura como reagente oxidante. Contudo, devido ao preço baixo, bom resultado nas taxas de conversão e melhor impacto ambiental,  $O_2$  é utilizado em maior escala neste processo produtivo (FECHE; BOUTEVIN; CAILLOL, 2015).

Pela complexidade envolvida na reação, diversidade nas fontes de ligninas e, conseqüentemente, frações de hidroxifenóis de sua composição não há um consenso para a produção de vanilina a partir da lignina. Por outro lado, a literatura sugere que a solução de lignina é tratada em ambiente alcalino, a elevada temperatura e pressão, de modo a gerar a vanilina, conforme proposto na Figura 7.

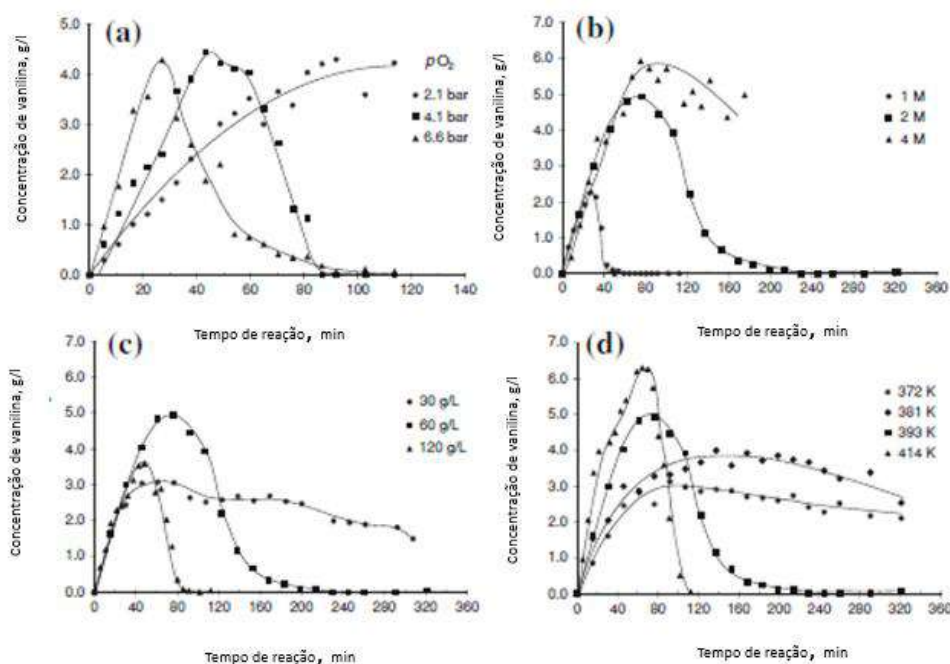
**Figura 7:** Mecanismo proposto para a obtenção de oxidação de lignina proposto.



**Fonte:** P.C. Rodrigues et. al., 2012

A obtenção da vanilina é afetada pelas variáveis comuns a diversos processos químicos (temperatura, pressão e concentração dos reagentes), mas sobretudo a origem da lignina, resultando, em consequência, em produtos distintos. Os gráficos observados Figura 8 mostram a variação da concentração de vanilina pelo tempo de reação em condições diversas de pressão de O<sub>2</sub>, concentração de NaOH, concentração de lignina e temperatura (PINTO *et al.*, 2012).

**Figura 8:** Perfil de vanilina durante a oxidação com oxigênio molecular em solução aquosa de NaOH em diferentes condições de operação.

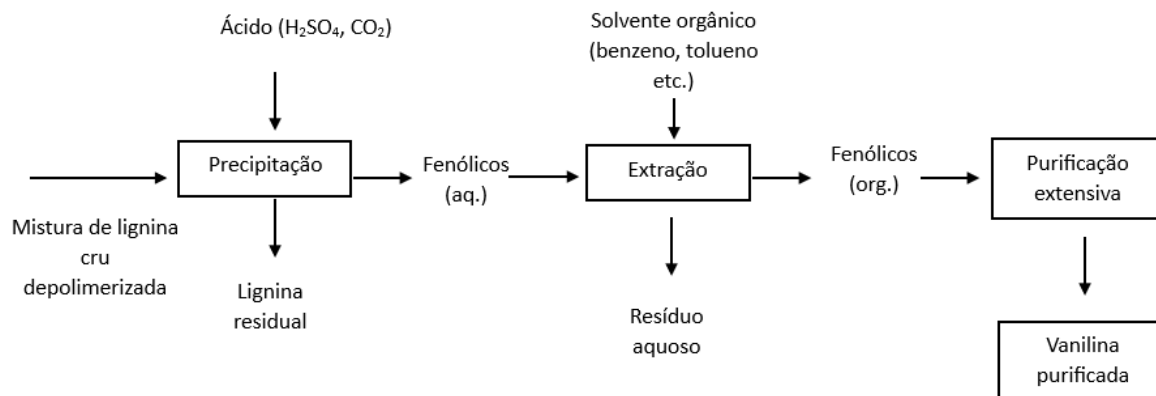


**Legenda:** Perfil de vanilina durante a oxidação com oxigênio molecular em solução aquosa de NaOH em diferentes condições de operação. a) Efeito de  $pO_2$  ( $C_L = 60$  g/l,  $C_{NaOH} = 2$  M,  $T_i = 393$  K,  $P_t = 9,2-9,4$  bar); b) Efeito de  $C_{NaOH}$  ( $C_L = 60$  g/l,  $T_i = 393$  K,  $pO_{2i} = 3,7$  bar,  $P_t = 9,6$  bar); c) Efeito de  $C_L$  ( $C_{NaOH} = 2$  M,  $T_i = 393$  K,  $pO_{2i} = 3,7$  bar,  $P_t = 9,6$  bar); d) Efeito de  $T_i$  ( $C_L = 60$  g/l,  $C_{NaOH} = 2$  M,  $pO_{2i} = 3,7$  bar,  $P_t = 10$  bar)

**Fonte:** PINTO et. al., 2012.

De acordo com PINTO (2012), após a solução de lignina passar pelo processo de oxidação alcalina, a mistura depolimerizada seguirá para o processo de obtenção de vanilina. O processo possui duas etapas intermediárias, que são a precipitação e extração. O processo mais convencional de precipitação (para a retirada da lignina residual da corrente) consiste na adição de ácido sulfúrico e/ou  $CO_2$  para acidificar o meio, que é seguida de extração da lignina por solvente orgânico, como benzeno, tolueno ou outros. Pela dificuldade do processo, uma etapa de purificação extensiva é requerida para que se obtenha vanilina purificada. O Diagrama de blocos da Figura 9 descreve as principais etapas envolvidas até a obtenção da vanilina purificada (PINTO et al., 2012).

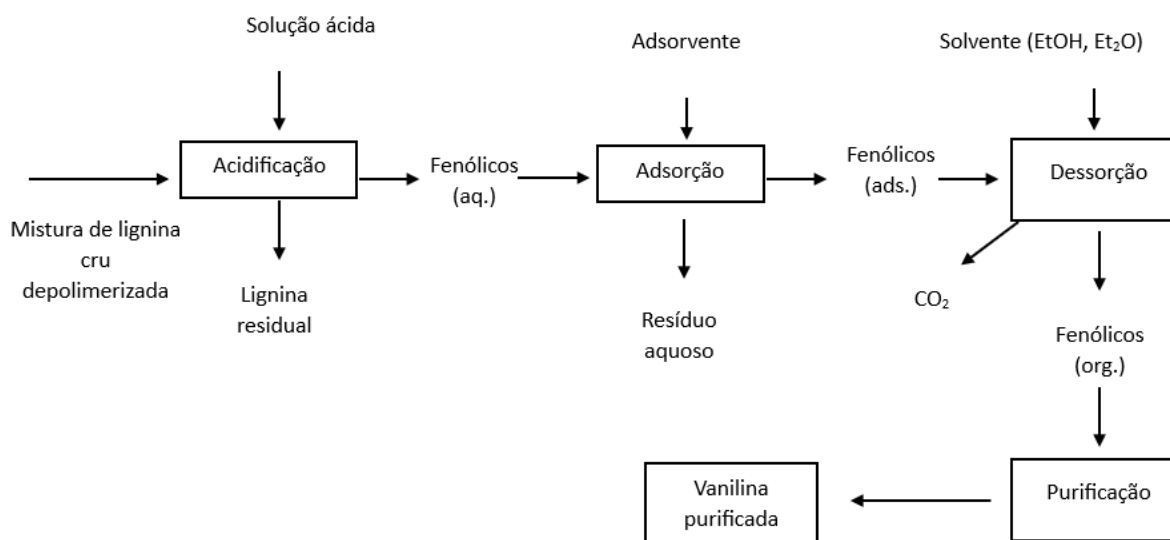
**Figura 9:** Obtenção de lignina purificada a partir de concentrado de lignina com acidificação e extração por solvente orgânico para a produção de vanilina.



Fonte: BELGACEN; GANDINI, 2008.

Outros processos para a separação também podem ser empregados. No processo de adsorção, por exemplo, a mistura é acidificada e segue para interagir com as zeólitas, como mostra o Diagrama da Figura 10.

**Figura 10:** Obtenção de vanilina a partir da lignina acidificada seguido pelo processo de extração por adsorção.



Fonte: BELGACEN; GANDINI, 2008.



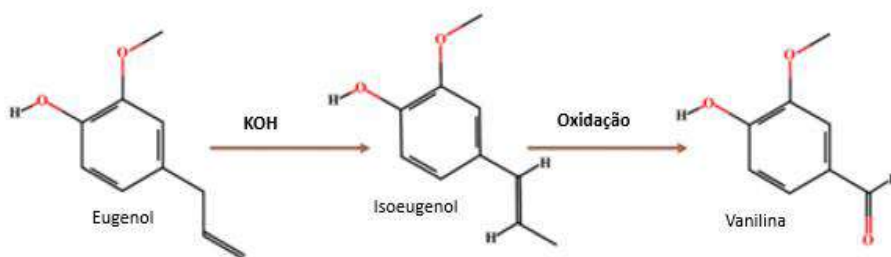
Contudo, para que as zeólitas adsorvam as moléculas fenólicas de baixa massa molecular, uma grande quantidade de ácido deve ser utilizada, o que pode inviabilizar o processo de extração em larga escala, devido ao tratamento das águas residuais do processo. Assim, outros processos têm sido empregados, tais como troca iônica, ultrafiltração, extração supercrítica, cristalização e acidificação. Porém, quando se considera produção em larga escala, embora alguns processos tenham melhores resultados e sejam mais eficientes que outros, há sempre uma perspectiva entre custo e benefício associado, o que, neste caso, reforça a utilização em larga escala do processo de acidificação (BELGACEN; GANDINI, 2008).

#### **4.3.3. Síntese de vanilina a partir do eugenol e isoeugenol**

Outra forma de obtenção da vanilina pode ser observada através da extração de compostos presentes em óleo essencial proveniente do cravo-da-índia. Tais compostos são o eugenol e seu isômero de posição, isoeugenol, que são popularmente conhecidos por suas propriedades anestésicas e antifúngicas.

A obtenção de vanilina a partir de eugenol, tendo o isoeugenol como intermediário, é um processo que vem sendo estudado extensivamente. O mecanismo envolvido na geração de vanilina é um mecanismo simples pois, fundamentalmente, envolve a formação do isoeugenol por reação entre o hidróxido de potássio e o eugenol, seguido da oxidação do isoeugenol, conforme mostra a Figura 11. Contudo, o fato do mecanismo apresentar duas etapas fundamentais, e apresentar alta taxa de conversão, o consumo dos reagentes é elevado, o que torna a reação (economicamente) inviável, abrindo espaço para a produção a partir de lignina (MARTAU; CALINOIU; VODNAR, 2021; PACHECO; JUNIOR; MORGADO, 2007; KORTEKAAS *et al.*, 1998).

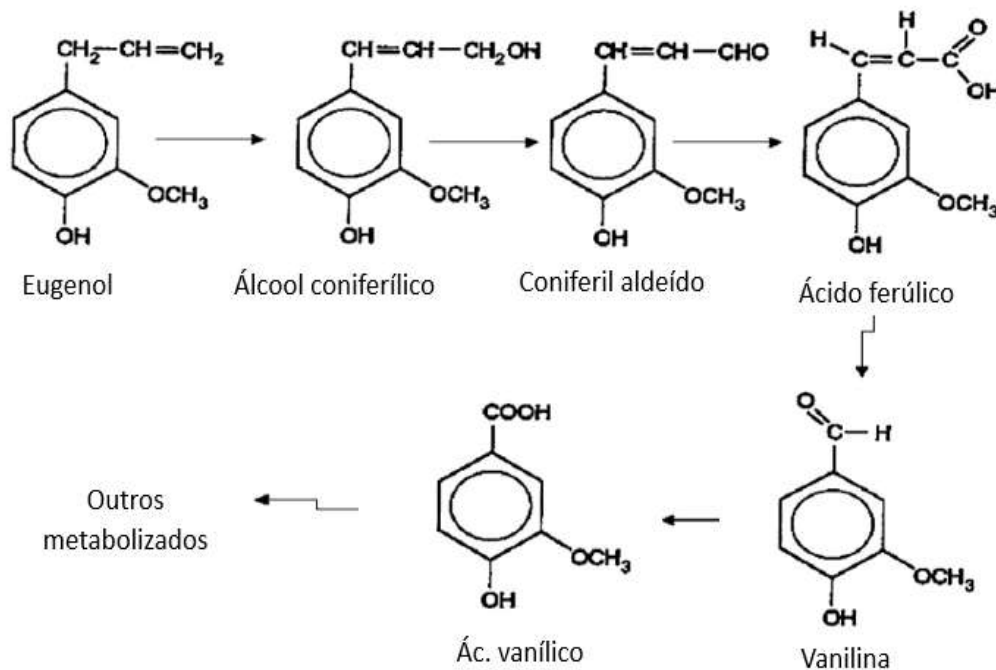
**Figura 11:** Reação de obtenção da vanilina a partir do eugenol, tendo isoeugenol como intermediário.



**Fonte:** MARTAU; CALINOIU; VODNAR, 2021.

Processos bioquímicos, por terem microrganismos envolvidos, requerem cuidados distintos dos processos químicos. ASHENGROPH, *et al* (2011), conduziram estudos para a obtenção de vanilina e ácido vanílico a partir do eugenol, em cultura bacteriana de *Pseudomonas Resinovorans* SPR1. Com um substrato de 1 g/L de eugenol, foram identificados intermediários, como ácido ferúlico e aldeído coniferil, após aproximadamente 25 horas. A maior concentração de vanilina registrada foi de 80 mg/L após 9 horas, o que corresponde a uma taxa de conversão de 8%, que é considerada uma taxa de conversão baixa. Quanto ao mecanismo proposto para a obtenção de vanilina a partir do eugenol, tendo o ácido ferúlico como intermediário, cujo mecanismo proposto por ASHENGROPH (2011) pode ser observado na Figura 12.

**Figura 12:** Mecanismo de obtenção da vanilina a partir do eugenol, tendo ácido ferúlico como intermediário.

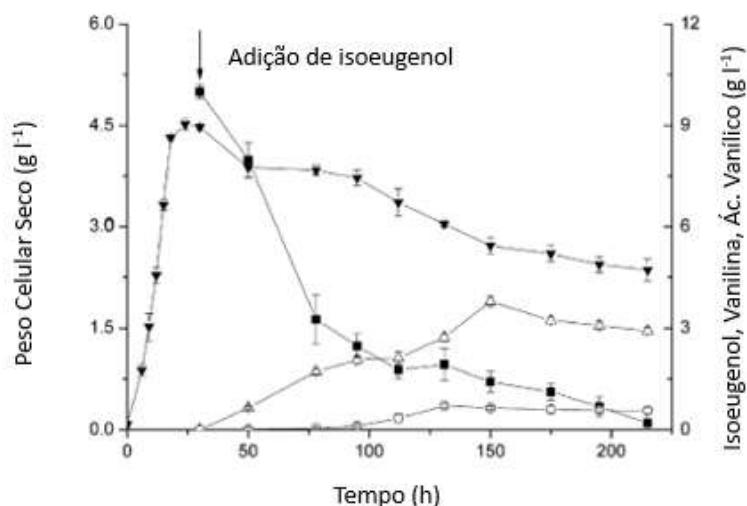


**Fonte:** ASHENGROPH, M .*et al*, 2011.

Como é sabido, o isoeugenol também está presente no óleo de cravo e por isto, processos de obtenção de vanilina a partir do óleo de cravo também vem sendo investigada (HUA *et al*, 2007).

Hua *et al.* (2007) conduziram experimentos para a obtenção de vanilina a partir do isoeugenol usando cultura bacteriana a *Bacillus pumilus*. Fundamentalmente, os autores informam que ao meio de cultura foi adicionado substrato de 1g/L de isoeugenol após 30 horas e o tempo de observação foi superior a 200 horas. A melhor taxa de conversão para a vanilina foi obtida por volta da hora 150, onde sua concentração foi de 3,75 g/L, representando uma taxa de conversão em torno de 40%, como demonstrado pelo gráfico da Figura 13.

**Figura 13:** Resultado da obtenção de vanilina e coprodutos a partir de isoeugenol com cultura de *Bacillus pumilus*.



**Legenda:** produção de vanilina a partir de isoeugenol por crescimento de cultura de *B. pumilus* S-1. Isoeugenol foi adicionado a 30 h com concentração inicial de 10 g/l. A condição de bioconversão foi de 200 rpm, 30 °C e 30 ml de meio GY em frasco de 300ml. Concentração de isoeugenol, vanilina e ác. Vanílico foi mensurada via HPLC. Os valores reportados são das 3 últimas replicatas e a barra de erros o desvio padrão. Os símbolos são: □, peso celular seco; ■, isoeugenol; ▲, vanilina; ▣, ácido vanílico.

**Fonte:** HUA *et al.*, 2007.

## 5. Biossíntese

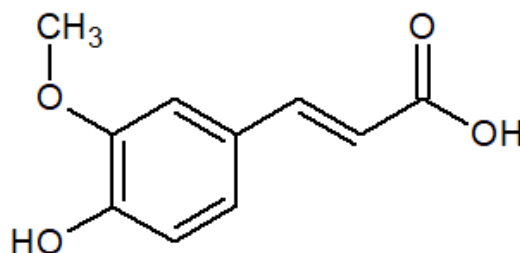
Biossíntese represa os múltiplos passos de um processo no qual são produzidos compostos químicos complexos a partir de organismos vivos. Nesse processo os compostos simples se convertem em outros compostos ou reagem formando macromoléculas. Usualmente, fazem parte da biossíntese compostos precursores, energia química, tais como trifosfato de adenosina (ATP) e enzimas catalíticas que podem requerer coenzimas, tais como o dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADH), nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH)). Além de macromoléculas biológicas importantes, tais como: proteínas, lipídeos, carboidratos—dentre outros, conforme a demanda (MA, Q. *et al.*, 2022).

## 5.1. Matéria-prima

Dentre as substâncias utilizadas como percussoras para a síntese de vanilina destaca-se o eugenol, isoeugenol e ácido ferúlico, este último em particular pela simplicidade da rota de obtenção, bem como por sua disponibilidade, uma vez que ser extraído de resíduos e subprodutos agrícolas. A possibilidade de extração do ácido ferúlico de resíduos agrícola representa uma alternativa de interesse comercial e ambiental. Vale destacar que o eugenol, apesar do interesse para algumas rotas de síntese, apresenta um caráter de alta toxicidade aos microrganismos, podendo inibir a produção da vanilina via processos fermentativos. Assim como o isoeugenol, que além de tóxico também apresenta certas limitações produtivas, como a sua baixa solubilidade em água, resultando baixo rendimento da vanilina (JIANG,W. *et al*, 2023; MA, Q. *et al.*, 2022; PAUL *et al*, 2021).

A literatura informa que o ácido ferúlico se encontra ligado à parede celular vegetal de diversas matérias primas e em diversas proporções, a depender da fonte, como demonstrado na Tabela 2 e que esta parede, que é composta por celulose, e os átomos de oxigênio presentes na estrutura do ácido ferúlico, como demonstrado na Figura 14, favorecem a ligação do tipo éster. E que a liberação do ácido ferúlico pode se dar por hidrólise enzimática. Portanto, uma vez que diversas linhagens de fungos e bactérias carregam genes capazes de expressar enzimas do tipo ácido ferúlico esterases, a hidrólise de ácido ferúlico pode ser realizada a partir de lignina e resíduos agrícolas (JIANG,W. *et al*, 2023; MA, Q. *et al.*, 2022; BANERJEE; CHATTOPADHYAY, 2018).

**Figura 14:** Estrutura molecular do ácido ferúlico.



**Fonte:** (BANERJEE; CHATTOPADHYAY, 2018).

**Tabela 2:** Teor de ácido ferúlico presente na parede celular vegetal de algumas matérias-primas.

<b>Matéria prima</b>	<b>Teor de ácido ferúlico na parede celular (g/Kg)</b>
<b>Farelo de milho</b>	30
<b>Milho</b>	31
<b>Bagaço de cana-de-açúcar</b>	20
<b>Grãos de cevada</b>	1,4
<b>Endosperma de arroz</b>	9
<b>Trigo</b>	6,6
<b>Açúcar de beterraba</b>	5 - 10

**Fonte:** Adaptado de PAUL *et al*, 2021; OU *et al*, 2013.

A Tabela 2 mostra o potencial do Brasil em ser um grande produtor de vanilina sintética tendo ácido ferúlico como precursor, uma vez que a disponibilidade de biomassas geradoras desse precursor é abundante. Vale destacar que o teor de ácido ferúlico presente no bagaço de cana-de-açúcar, biomassa residual de outros processos, é significativo, permitindo inferir certa competitividade ao Brasil nos próximos anos (PRODUÇÃO DE CANA, 2022; PAUL *et al*, 2021; OU *et al*, 2013.).

### 5.1.1 Cana-de-Açúcar

A cana-de-açúcar, pertencente ao gênero *Saccharum L.*, é uma espécie híbrida cultivada, denominada como *Saccharum spp.*, e composta por pelo menos seis espécies distintas, originárias do sudeste asiático. Caracterizada por seu formato cilíndrico e fino, além de folhas de grande porte e capaz de atingir até seis metros de altura, a cana-de-açúcar foi introduzida no Brasil durante o século XVII, com o objetivo de romper com o monopólio francês na produção açucareira e tornou-se uma das principais culturas na economia brasileira (LINO, 2015). De fato, o plantio de cana está relacionado às atividades econômicas mais antigas do país e aos principais eventos históricos (CANA, 2022).

O Brasil destaca-se como líder mundial na produção de cana de açúcar e seus derivados, com média anual de produção de aproximadamente 720 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, cerca de 40% da produção mundial dessa *commodity*. O setor sucroalcooleiro do país é composto por 373 unidades industriais, distribuídas

por todas as regiões e concentradas principalmente na produção de açúcar e álcool (BIOELETRICIDADE, 2022, CANA, 2022).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) em sua primeira estimativa, da safra 2023/24, aponta para um aumento na produção de cana-de-açúcar, quando comparada à última safra. A estimativa é de crescimento de 4,4% em relação à safra 2022/23, resultando em uma produção de 637,1 milhões de toneladas de cana-de-açúcar. O país deverá destinar 8.410,3 mil hectares de cana-de-açúcar para a colheita, com um rendimento médio de 75.751 kg/ha. O maior crescimento de área é justificado pelo aumento de áreas de expansão e renovação, o que impacta diretamente na produtividade, uma vez que os primeiros cortes possuem um maior rendimento. Além disso, as condições climáticas, para essa safra, vêm se apresentando ainda melhores que na safra 2022/23 (CONAB, 2023).

A utilização da cana-de-açúcar como fonte de bioenergia tem sido amplamente reconhecida como uma alternativa altamente sustentável. Por meio de tecnologias convencionais, é possível produzir etanol e energia elétrica em conformidade com padrões ambientais elevados. Além disso, novos processos como a hidrólise lignocelulósica e a gasificação de resíduos energéticos, podem contribuir ainda mais para um balanço ambientalmente satisfatório (LINO, 2015).

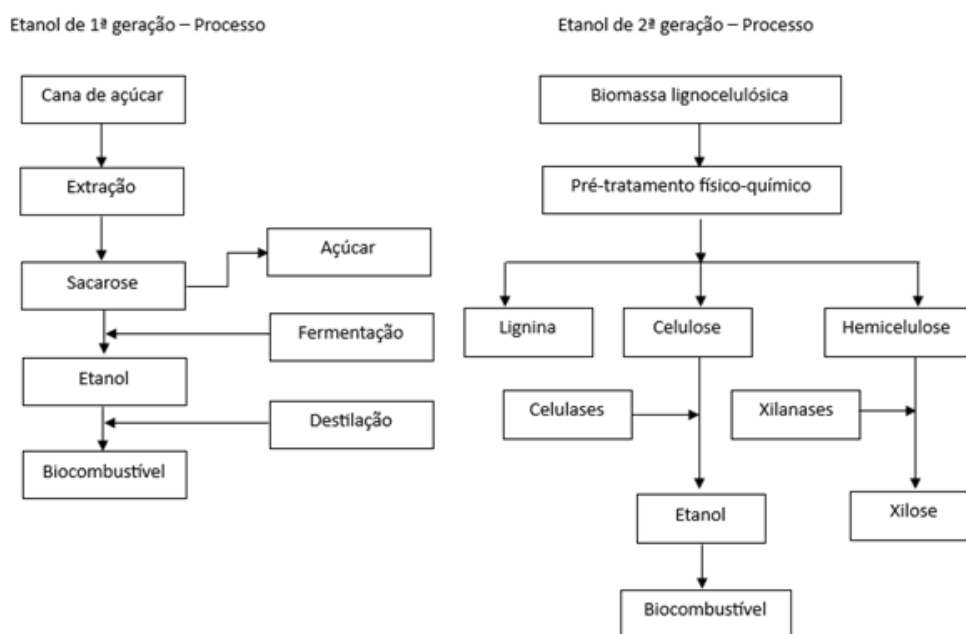
### **5.1.2 Bagaço da Cana-de-Açúcar**

A produção de cana-de-açúcar tem como objetivo principal a geração de sacarose, que pode ser comercializada diretamente ou convertida em glicose invertida para a fermentação e produção de etanol. Como consequência dessa atividade, surgem quantidades consideráveis de materiais lignocelulósicos, como a palha e o bagaço (CONB, 2023; SANTOS, 2018).

O bagaço é o resíduo gerado após a extração do caldo da cana-de-açúcar, que é composto por quatro frações: material fibroso (45%), água (51%-49%), sólidos não solúveis (2%-3%), e sólidos solúveis e extrativos (2%-3%) (LINO, 2015). Os principais componentes macromoleculares do bagaço são a celulose, as polioses (hemiceluloses) e a lignina. A celulose, que é o principal componente da parede celular, representa entre 41% e 44% do bagaço, enquanto a lignina representa entre 20% e 22%. As hemiceluloses correspondem a 25%-27% da composição e os 10% restantes são compostos minoritários de baixo peso molecular, extrativos e substâncias minerais (LINO, 2015).

Nos últimos anos, têm sido desenvolvidos processos e propostas para a conversão da lignocelulose presente no bagaço e na palha em açúcares, com o intuito de obter etanol de "segunda geração" ou bioetanol celulósico. A Figura 15 ilustra esses processos de conversão (CONB, 2023; SANTOS, 2018).

**Figura 15:** Fluxograma de produção de etanol e sacarose.



**Fonte:** Adaptado de SANTOS, 2018.

De acordo com Cordeiro (2009) aproximadamente 30% do total de cana-de-açúcar produzido consiste em bagaço. Isso significa que, considerando uma produção cerca de 720 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, há uma produção estimada de cerca de 216 milhões de toneladas de bagaço. Na indústria, o bagaço tem sido frequentemente utilizado como fonte de energia em caldeiras para a geração de vapor d'água dos processos produtivos de açúcar e álcool ou na cogeração de processos energéticos. Além disso, a quantidade remanescente desse material pode ser aproveitada em diversos processos industriais, como a fabricação de papel, móveis, ração animal, compostagem, entre outros (NASCIMENTO, 2011).

Embora o bagaço seja amplamente utilizado na indústria, estima-se que entre 10% e 15% dele seja gerado como excedente no processo produtivo, isto é, sem uma destinação apropriada e rentável, resultando em acumule e além de torná-lo um agente poluente em algumas regiões produtoras de cana-de-açúcar (OLIVEIRA, 2010). Este cenário reforça a relevância da proposta deste TCC, o estudo do ácido como precursor de vanilina.



## 5.2 Síntese de vanilina por rota fermentativa

A extração natural da baunilha (vanilina) ocorre graças ao processo natural de biossíntese que ocorre nas plantas. Nesse, os tecidos da planta sintetizam vanilina, usando a rota biossintética segundo a totipotência<sup>4</sup> da planta. Há um baixo rendimento de vanilina, conforme já informado, o que restringe, significativamente, o atendimento da demanda de mercado (JIANG,W. *et al*, 2023; PAUL *et al*, 2021).

Assim, o método enzimático, que fundamentalmente se baseia no emprego de enzimas para a biossíntese da vanilina, utilizando diferentes substratos como ponto de partida tem crescente interesse comercial. O método microbiológico recorre ao uso de bactérias, fungos, leveduras ou células microbianas modificadas para a síntese de vanilina, aproveitando subprodutos agrícolas (PAUL *et al*, 2021).

O enfoque microbiológico para a produção de vanilina vem sendo cada vez mais considerado devido a inúmeras vantagens, como o custo de produção reduzido, a facilidade de acesso, a simplicidade do processo e a versatilidade metabólica. Assim, os microrganismos produzem a vanilina como um metabólito secundário e extracelular, a partir da degradação de precursores metabólicos (PAUL *et al*, 2021).

O uso de culturas de células fúngicas como, por exemplo, *Phanerochaete chrysosporium* e *Aspergillus niger*, para a biossíntese de vanilina apresentam altos rendimentos, a despeito de algumas desvantagens, tais como : a desintegração do micélio, aumento da viscosidade do meio e fragmentações celulares. Este último, em particular, que representa um certo impedimento do processo como um todo e elevam os custos de etapas *downstream*. Assim como, o uso de culturas bacterianas para promover a síntese de vanilina apresenta resultados também promissores, permitindo contornar as desvantagens do uso de células fúngicas. *Lactobacillus hilgardii*, *Pediococcus damnosus*, *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus brevis* e *Lactobacillus planatarum* são exemplos de espécies capazes de promover a bioconversão de ácido ferúlico em vanilina (JIANG,W. *et al*, 2023).

Vale ressaltar que as tecnologias que fazem uso de DNA recombinante tem ganhado cada vez mais espaço, pois permitem maior rendimento de vanilina (PAUL *et al*, 2021). Dadas as diversas possibilidades de biossíntese, a Quadro 1 mostra, sem exaurir as possibilidades, potenciais microrganismos para a biossíntese de vanilina (BANERJEE; CHATTOPADHYAY, 2018).

---

<sup>4</sup> Totipotência consiste na capacidade que uma célula tem de se dividir e se diferenciar em todos os tipos de células especializadas.

**Quadro 1:** Microrganismos promissores para biossíntese de vanilina.

<b>Microrganismo</b>	<b>Substrato</b>	<b>Fermentação</b>
<b>Fungos</b>		
<i>Sporotrichum thermophile</i> . LWT	Ácido ferúlico	Batelada/Fermentação em estado sólido
<i>Espergillus niger</i> CGMCC0774 e <i>P. cinnabarinus</i> CGMCC1115	Ácido ferúlico	Batelada/Fermentação em estado sólido
<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	Ácido ferúlico	Batelada/Fermentação em estado sólido
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> NCIM1197	Ácido ferúlico	Batelada/Fermentação em estado sólido
<i>A. niger</i> K8 e <i>P. chrysosporium</i> ATCC 24725	Ácido ferúlico	Batelada/Fermentação em estado sólido
<i>Streptomyces</i> sp. V-1	Ácido ferúlico	Batelada/Fermentação em estado sólido
<i>A. niger</i> I-1472	Isoeugenol	Batelada/Fermentação em estado sólido
<i>Colletotrichum acutatum</i> e <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Ácido ferúlico	Batelada/Fermentação em estado sólido
<b>Bactérias</b>		
<i>Amycolotopsis</i> sp. ATCC 39116	Ácido ferúlico	Batelada
<i>Bacillus fusiformis</i>	Isoeugenol	Batelada
<i>Bacillus pumilus</i> S-1	Isoeugenol	Batelada
<i>Bacillus subtilis</i> MTCC 1427	Ácido ferúlico, eugenol e isoeugenol	Batelada
<i>Bacillus subtilis</i> B7 - S	Ácido ferúlico	Batelada
<i>Bacillus aryabhatai</i> BA03	Ácido ferúlico	Batelada
<i>Pseudomonas putida</i> KT2440	Ácido ferúlico	Batelada
<i>Pseudomonas</i> sp.	Ácido ferúlico	Batelada
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> CDAE5	Isoeugenol	Batelada
<i>Pseudomonas putida</i> IE27	Isoeugenol	Batelada
<i>Enterobacter</i> sp. Px6-4	Ácido ferúlico	Batelada
<i>Pseudomonas</i> sp. KOB10	Isoeugenol	Batelada
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ISPC2	Isoeugenol	Batelada
<i>Psychrobacter</i> sp. CSW4	Isoeugenol	Batelada

Fonte: BANERJEE; CHATTOPADHYAY,2018.

Considerando que o objetivo é sintetizar vanilina a partir de ácido ferúlico, os microrganismos devem apresentar certas características para serem aplicados no processo fermentativo. Devem ser resistentes à meios que contenham ácidos

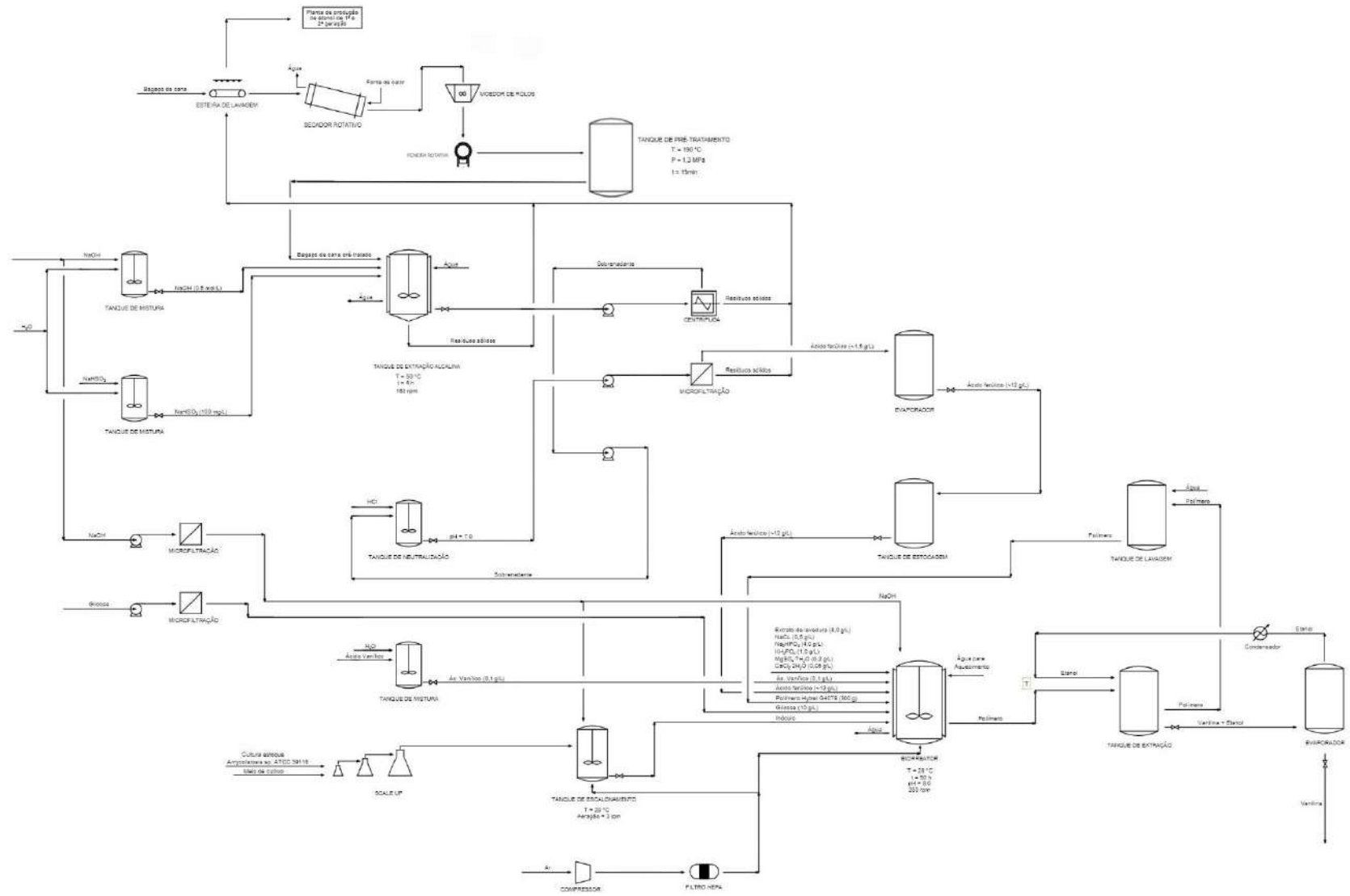
fenólicos e devem ser capazes de hidrolisar as ligações do tipo éster presentes em resíduos agrícolas. Devem também produzir ácido ferúlico esterase extracelular e converter moléculas de ácido ferúlico em vanilina (BANERJEE; CHATTOPADHYAY, 2018).

Um microrganismo que atende as especificações necessárias para a bioconversão do ácido ferúlico em vanilina é a bactéria *Amycolatosis sp.* ATCC 39116, previamente conhecida como *Streptomyces griseus*. Esta bactéria é gram positiva, não patogênica e proposta para fins alimentícios. A literatura valida sua capacidade de conseguir metabolizar o ácido ferúlico presente na lignina, promovendo a síntese de, sobretudo, vanilina. Alguns subprodutos obtidos em menores quantidades durante a fermentação podem ser destacados como ácido vanílico, álcool vanílico, e guaiacol (JIANG,W. *et al*, 2023;PÉREZ-RODRIGUEZ, 2015).

## **6. Discussão da Proposta do Trabalho de Conclusão de Curso**

Com base na revisão bibliográfica apresentada neste Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), propõe-se um procedimento para a produção de vanilina a partir do ácido ferúlico, oriundo de bagaço de cana de açúcar, cujo processo geral pode ser observado na Figura 16

**Figura 16:** Fluxograma geral para produção ode vanilina a partir de Ácido Ferúlico



Fonte: autores.

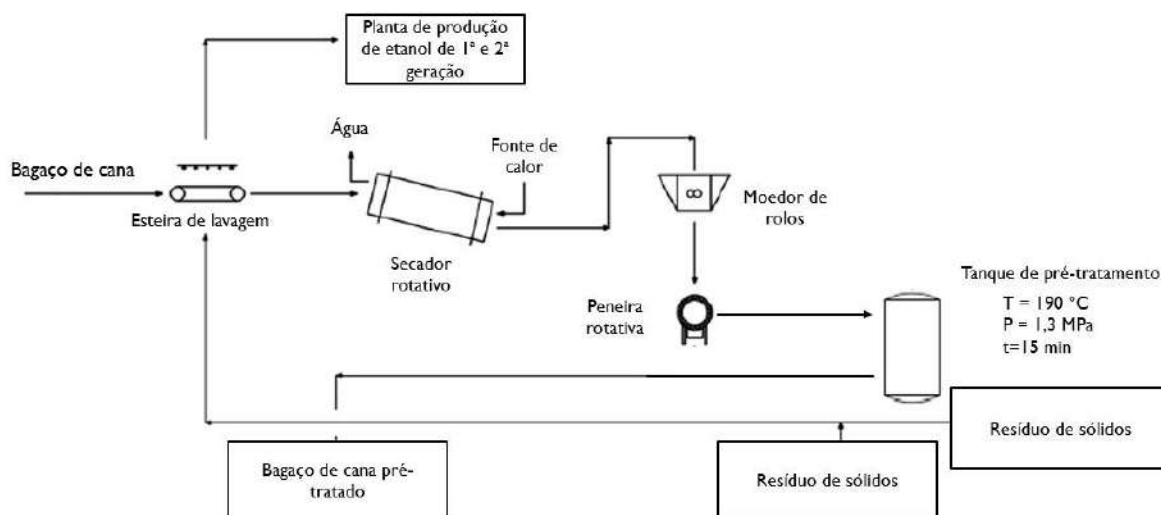
## 6.1 Processo de Produção

O processo de produção de vanilina observado na Figura 16, tem por o objetivo principal: i. extrair o ácido ferúlico presente no bagaço de cana e ii. promover sua conversão em vanilina por via fermentativa, utilizando a bactéria *Amycolatopsis* sp. ATCC 39116. Para facilitar a avaliação o processo proposto, foi dividido em quatro etapas principais: i. pré-tratamento do bagaço de cana, ii. extração alcalina de ácido ferúlico, iii. fermentação e iv. purificação da vanilina.

### 6.1.1 Pré-tratamento

Assim como realizado em plantas de produção de etanol, o bagaço de cana, inicialmente passa por uma esteira de lavagem para remoção de impurezas e resíduos, conforme mostra a Figura 16a.

**Figura 16a:** Etapa de pré-tratamento do fluxograma proposto para a obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico.



**Fonte:** autores.

De acordo com a Figura 16a, realiza-se ainda uma etapa de secagem em um secador rotativo. Este secador é composto por um cilindro inclinado, que atravessa a biomassa úmida. O equipamento é composto por um casco externo em que circula vapor quente de água responsável por aquecer as paredes internas deste, dando início ao processo de secagem. O bagaço de cana seco segue para moagem em um

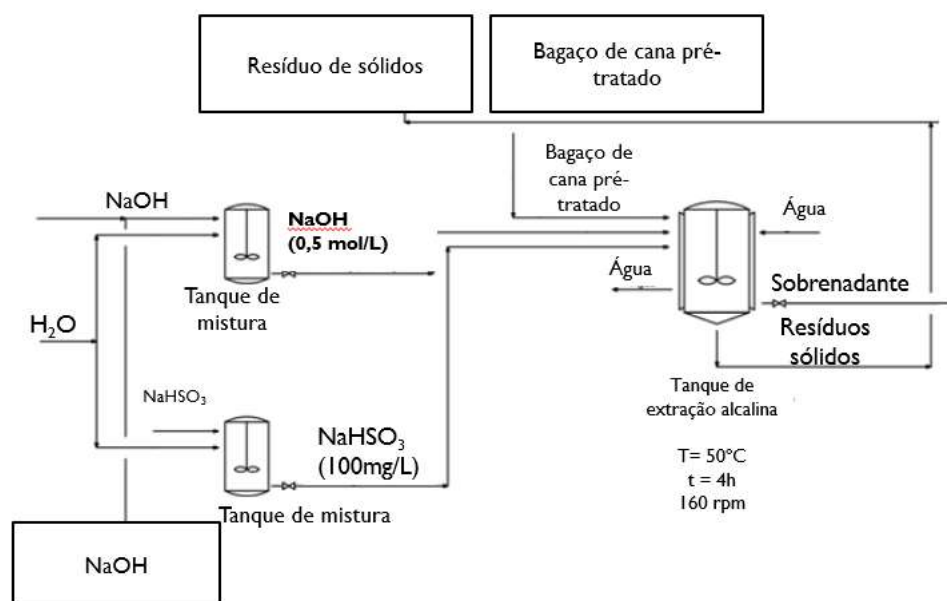
moedor de rolos, comumente utilizado também na indústria de produção de etanol. (NASCIMENTO, 2011).

O resíduo seco e triturado é filtrado por uma peneira de 45 mesh antes de ser transferido para um tanque de pré-tratamento. Neste tanque o bagaço é submetido a uma temperatura de 190°C e uma pressão de 1,3 Mpa por 15 minutos, processo que permite a solubilização da hemicelulose. Este passo é crucial, uma vez que a hemicelulose pode inibir a hidrólise da lignina e, por consequência, interferir na liberação do ácido ferúlico. Após essa fase, o material prossegue para a etapa de extração (KARP et al, 2013)

### 6.1.2 Extração alcalina

O ácido ferúlico encontra-se na fração de lignina do bagaço de cana o qual é submetido a um dos métodos de grande eficiência para deslignificação de resíduo agrícola, a extração alcalina conforme mostra a Figura 16b.

**Figura 16b:** Etapa extração alcalina do fluxograma proposto para obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico.



**Fonte:** autores.

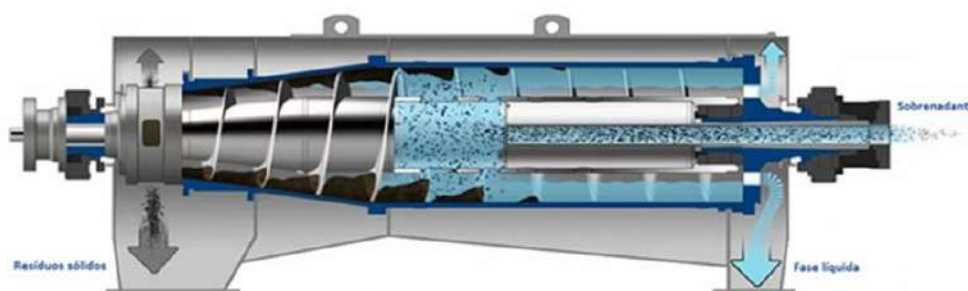
A observação da Figura 16b, mostra que após a extração, o resíduo sólido do bagaço é rico em celulose e pode ser encaminhado para uma planta de produção

de etanol de segunda geração, onde sofrerá hidrólise enzimática para conversão em glicose e, por fim, seguirá para o processo de fermentação alcoólica (OU *et al*, 2013).

No tanque de extração alcalina, adiciona-se o bagaço de cana pré-tratado, uma solução de NaOH de 0,5 mol/L e uma solução de NaHSO<sub>3</sub> de 100 mg/L, que contribui para evitar oxidação das moléculas de ácido ferúlico extraídas. O tanque deve possuir agitação a uma rotação de 160 rpm durante as 4 horas de extração. Além disso, como o processo é endotérmico e que o processo deve acontecer a uma temperatura de 50 °C, o tanque deverá contar com camisa de água aquecida.

Após a extração, em cerca de 4 horas, o aquecimento e a agitação dever ser interrompidos a fim de permitir a sedimentação dos resíduos sólidos no próprio equipamento. A fração sobrenadante é bombeada para uma centrífuga de modelo conforme Figura 17. Durante a operação deste equipamento, a fase sólida é removida na região frontal e a parte líquida menos densa, que deseja ser recuperada, é coletada na parte traseira (OU *et al*, 2013).

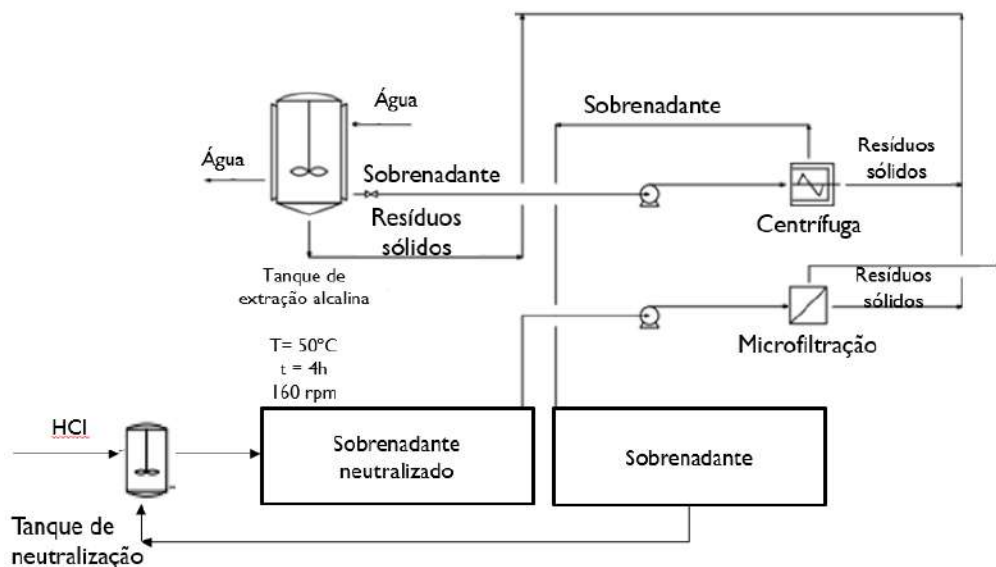
**Figura 17:** Centrífuga decanter Flottweg.



**Fonte:** CENTRIFUGA DECANTER, 2023

Após a centrifugação, o sobrenadante deve ser neutralizado, conforme mostra a Figura 16c.

**Figura 16c:** Etapa de neutralização do fluxograma proposto para obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico.



**Fonte:** autores.

De acordo com a Figura 16c, no tanque de neutralização, é levado a um pH 7.0, resultando nas precipitações de resíduos. O sobrenadante segue para o módulo de microfiltração, também com objetivo de remover resíduos sólidos restantes do processo de extração e neutralização. Após essa etapa, obtém-se uma solução com concentração de ácido ferúlico de aproximadamente 1,5 g/L. Além disso, esse meio também contém substâncias não-extrativas presentes no bagaço que são essenciais para o processo fermentativo como, por exemplo, sais de potássio, sódio, cálcio e manganês. Por fim, para que a solução de ácido ferúlico possa ser utilizada na fermentação ela deverá ser concentrada em aproximadamente 12 g/L, pelo uso do evaporador.

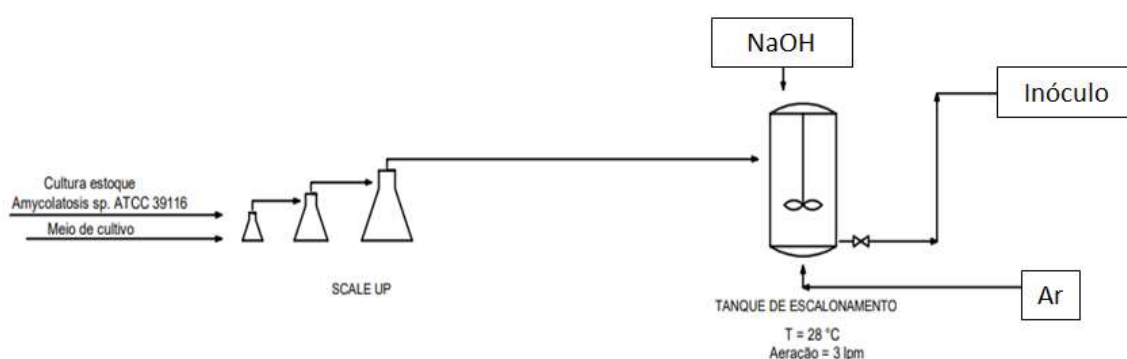
Deve-se ressaltar que é sugerido que todos os resíduos sólidos gerados nas etapas de sedimentação, centrifugação e microfiltração passem por uma etapa de lavagem para serem encaminhados para uma planta de produção de etanol de segunda geração (PÉREZ-RODRIGUEZ, 2015; OU *et al*, 2013).



### 6.1.3 Scale-up

É necessário fazer um crescimento inicial da bactéria *Amycolatosis sp.* ATCC 39116, para isso usa-se um meio de cultura esterilizado contendo Extrato de levedura (8,0 g/L), NaCl (0,5 g/L), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (4,0 g/L), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1,0 g/L), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,2 g/L), CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (0,05 g/L) em meio de pH igual a 8 e a 28°C, cujo esquema geral pode ser observado na Figura 16d.

**Figura 16d:** Etapa de *Scale-up* do fluxograma proposto para obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico.



**Fonte:** autores.

Este procedimento é seguido de um período de incubação no tanque de escalonamento por 18 horas, no qual a cultura bacteriana é exposta a níveis de oxigênio dissolvido que variam de 60% a 100%. Durante esse intervalo, é estabelecido um ambiente ótimo para a promoção do crescimento e desenvolvimento da cultura bacteriana. Após a conclusão deste período de incubação, a cultura bacteriana é considerada preparada e apta para futuras aplicações (PÉREZ-RODRIGUEZ, 2015).

### 6.1.4 Biorreação

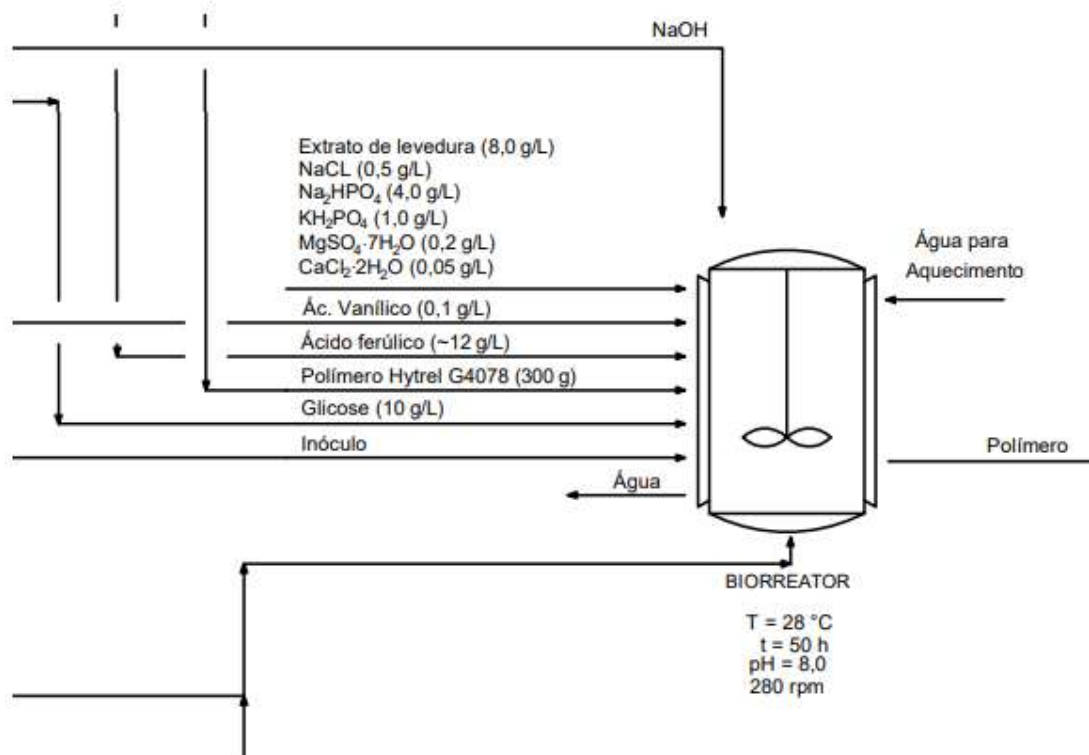
A Antes do início da fermentação, deve-se realizar a esterilização dos componentes que farão parte desta etapa do processo.

O biorreator escolhido foi o de duas fases separadas, o TPPB (do inglês *two-phase partitioning bioreactor*) já que ocorre a remoção do produto será *in situ*, através do uso do polímero. Tal reator é citado na literatura por apresentar resultados bastante

satisfatórios quando utilizado para a bioprodução de compostos que conferem especiais, tais como sabores e fragrâncias (MA; DAUGULIS, 2013). Assim, a etapa de *biorreação* do fluxograma proposto para a obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico, pode ser observada no esquema apresentado na Figura 16e.

A Figura 16e mostra o esquema geral da etapa de biorreação.

**Figura 16e:** Etapa de *biorreação* do fluxograma proposto para obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico.



**Fonte:** autores.

No biorreator são adicionados os nutrientes, solução de ácido vanílico de 0,1 g/L, o polímero Hytreil G4078<sup>5</sup> (300 g) e ácido ferúlico 12 g/L e são submetidos a um calor úmido de 121 °C por 20 minutos. Como a solução de glicose pode sofrer um processo de caramelização a uma temperatura de 121 °C, sua esterilização é realizada a partir de membranas de microfiltração com poros de 0,22 µm de diâmetro. Além disso, adiciona-se NaOH, previamente esterilizado por membranas de microfiltração, ao meio para permitir controle de pH ótimo de atividade da bactéria em torno de 8,0 (MA; DAUGULIS, 2013).

<sup>5</sup> Hytreil® Poliéster termoplástico elastomérico de Dureza Shore D (ISO 868): 33; Melt Point, °C (ISSO 11357): 170 °C; Shrink, % (ISSO 294): 0,5%.

Após a adição de todos esses compostos, adiciona-se a cultura de ATCC 39116 e inicia-se a reação que deve ser realizada a uma temperatura de 28 °C e uma agitação a 280 rpm. A intensidade de agitação do meio foi determinado de modo a ter um cisalhamento mínimo suficiente das células bacterianas, uma vez que são actinomicetos (bactérias com crescimento filamentosos) e possuem hifas (filamentos de célula que formam micelas) em sua composição, permitindo, em última análise, que todo o sistema mantenha-se em suspensão. A batelada dura cerca de 50 horas e esse processo requer uma aeração de 3 L/min. Ressalta-se que o ar inserido no meio passa por um filtro do tipo HEPA<sup>6</sup> previamente para eliminação de microrganismos indesejáveis (MA, 2013; PÉREZ-RODRIGUEZ, 2015).

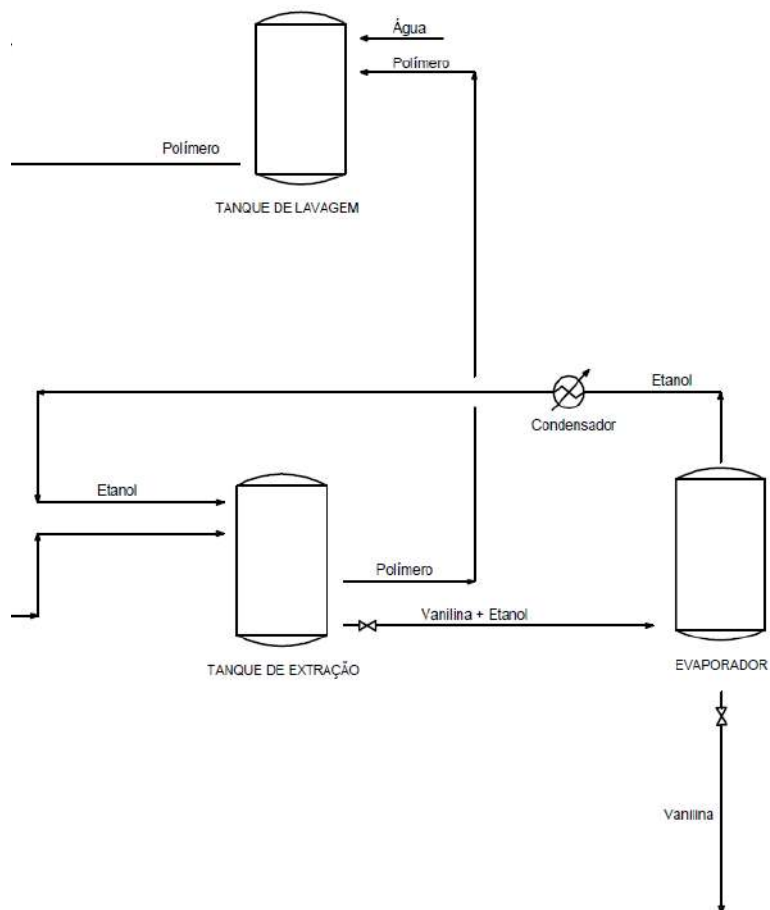
O polímero Hytrel G4078 utilizado, apresenta um alto valor de coeficiente de partição em relação à vanilina. Uma outra vantagem de utilização do polímero é que a adsorção do produto desejado reduz efeitos de inibição do microrganismo pela concentração de produto no meio. Assim, o polímero com vanilina adsorvida é retirado e levado ao tanque de extração para que ocorra a recuperação da Vanilina formada. O polímero passa por 5 etapas de lavagens com etanol no tanque de extração para recuperação completa da vanilina. Posteriormente, o polímero recuperado segue para o tanque de lavagem, com água e, posteriormente, reutilizado no biorreator para mais uma batelada, enquanto a mistura de etanol e vanilina é direcionada a um evaporador (OU *et al*, 2013).

No evaporador a vanilina em meio ao etanol é concentrada a 120 °C, conforme mostra o esquema apresentado na Figura 16f. Nesta condição o etanol evaporado é retirado, seguindo para o condensador e retorna ao processo de extração. Já a vanilina concentrada em cerca de 12 g/L em meio alcoólico segue para a área de estocagem para ser comercializada.

---

<sup>6</sup> Trata-se de filtro com alta tecnologia de retenção de contaminantes e partículas. Compostos de uma malha de fibra de vidro dispostos aleatoriamente com diâmetros entre 0,5 a 2 µm e espaços maiores que 0,3 µm. E de maior eficiência de filtros de membranas.

**Figura 16f:** Etapa de *concentração* do fluxograma proposto para obtenção de Vanilina a partir de ácido ferúlico.



**Fonte:** autores.

## 7. Considerações finais

No presente trabalho realizou-se um levantamento bibliográfico a respeito da produção de vanilina. No qual, buscou-se identificar quais as possíveis rotas produtivas com foco na sustentabilidade dos processos, fonte e disponibilidade matérias primas, aplicabilidade e interesse comercial.

Em primeiro lugar, foi apresentada uma visão geral dos métodos produção de vanilina. Destacando-se três métodos principais a produção de vanilina: extração vegetal, síntese química e biossíntese. A vanilina natural, a mais desejada, é geralmente extraída da baunilha, orquídeas, e outras planta. Entretanto, sua produção natural é muito difícil, além de ser muito cara, de USD 1200 a USD 4000 por quilo, é incapaz de atender a demanda atual, bem como a previsão de crescimento de 7% até 2025. Assim, abre-se oportunidade para a investigação de outros métodos de obtenção.

Em segundo lugar, foi identificada que a rota de biossíntese que faz uso do ácido ferúlico como precursor da vanilina a mais adequada para ser aplicada no Brasil. Essa conclusão teve como base a disponibilidade do bagaço de cana-de-açúcar, cerca de 216 milhões de tonelada; o teor de ácido ferúlico nessa biomassa em cerca de 2.4 %; e, por se tratar de um resíduo do agronegócio e, portanto, de baixíssimo custo, versatilidade e alta disponibilidade, tornando mais economicamente viável.

Em terceiro lugar, após a comparação das principais tecnologias de produção de vanilina, identificou-se que a fermentativa era a que mais se adequava a proposta deste trabalho. Assim, o processo fermentativo de obtenção da vanilina tendo como precursor ácido ferúlico, apresentado neste trabalho de conclusão de curso possui quatro etapas principais: pré-tratamento do bagaço de cana, extração alcalina de ácido ferúlico, fermentação utilizando a bactéria *Amycolatopsis* sp. ATCC 39116 e purificação da vanilina. Esta rota apresentou uma vanilina isenta de contaminantes usuais tais como derivados de aldeídos.

Desta forma, com o crescimento da população mundial e a conseqüente tendência de aumento da demanda, é fundamental buscar novos conhecimentos e avanços no campo da vanilina, a fim de atender às necessidades futuras. Portanto, a continuidade das pesquisas e investigações relacionadas a esse composto é de extrema importância para a compreensão e aproveitamento máximo de seu potencial.

## 8. Referência Bibliográficas

ASHENGROPH, M.; NAHV I.; ZARKESH-ESFAHAN, H.; MOMENBEIK, F. *Pseudomonas resinovorans* SPR1, a newly isolated strain with potential of transforming eugenol to vanillin and vanillic acid. **New Biotechnology V. 28, Nº 6.** 2011

BANERJEE, G.; CHATTOPADHYAY, P. Vanillin biotechnology: the perspectives and future. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture.** p. 499-506. 2018.

BELGANCEN, N. B.; GANDINI, A. **Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources.** 1 ed. Amsterdam: Elsevier 2008

CANA. In **EMBRAPA, 2022.** Disponível em <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana> Acesso em abr. 2023

CHEE, M. U. J. Y.; LYCETT, G.W.; KHOO, T.; CHIN, C.F. Bioengineering of the Plant Culture of *Capsicum frutescens* with Vanillin Synthase Gene for the Production of Vanillin. **Molecular Biotechnology.** p. 1-8. 2016.

CLARENSIA, V; KURNIAWAN, J.; LO, D. The changes in density, flavor compounds, and sensory description of vanilla extract after expiration. **Bristol Vol. 794, Ed. 1.** 2021

Como a BIOELETRICIDADE pode aumentar o lucro da cana-de-açúcar. In Estadão 2020. Disponível em <https://summitagro.estadao.com.br/tendencias-e-tecnologia/bioeletricidade-pode-aumentar-lucro-cana-de-acucar/> Acesso em abr. 2023

CONB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Cana-de-açúcar,** Brasília, v11 – Safra 2023/24, n. 1 - Primeiro levantamento, p. 1-55, Abril 2023. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>

CONVERTI, A.; ALIAKBARIAN, B.; DOMÍNGUEZ, J.M.; BUSTOS VÁZQUEZ, G.; PEREGO, P. Microbial production of biovanillin. **Braz. J. Microbiol.** p.519–530. 2010.

CORDEIRO, G.C. Caracterização de cinza do bagaço de Cana-de-açúcar para emprego como pozolana em materiais cimentícios. **Química Nova**. Campos dos Goytacazes, p. 82-86. jan. 2009.

FECHE, M.; BOUTEVIN, B; CAILLOL, S. Vanillin production from lignin and its use as a renewable Chemical. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**. 2015

GALLAGE, N. J. & MØLLER, B. L. Vanilla: The Most Popular Flavour. **Biotechnology of Natural Products**, 3–24. 2017

GALLAGE, N. J., & MØLLER, B. L. (2017). Vanillin–Bioconversion and Bioengineering of the Most Popular Plant Flavor and Its *De Novo* Biosynthesis in the Vanilla Orchid. **Mol. Plant**. 8, 40–57. 2015

GVR Report cover Vanillin Market Size, Share & Trends Report Vanillin Market Size, Share & Trends Analysis Report By End-use (Food & Beverage, Fragrance, Pharmaceutical), By Region (North America, Europe, Asia Pacific, Central & South America, MEA), And Segment Forecasts, 2020 - 2025. in **Grand View Research, 2022**. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/vanillin-market> Acesso em abr. 2023

HUA, D.; MA, C.; LIN, S.; SONG, L.; DENG, Z.; MAOMY, Z.; ZHANG, Z. YU, B.; XU, P. Biotransformation of isoeugenol to vanillin by a newly isolated *Bacillus pumilus* strain: Identification of major metabolites. **Journal of Biotechnology** 130 p. 463–470. 2007.

JIANG, W.; CHEN, X.; FENG, Y.; SUN, J.; JIANG, Y.; ZHANG, W.; XIN, F. e JIANG, M. **Current Status, Challenges, and Prospects for the Biological Production of Vanillin**. Fermentation, 9, 389, 2023.

KARP, S. G.; WOICIECHOWSKI, A. L.; SOCCOL, V. T; SOCCOL, C.R. Pretreatment Strategies for Delignification of Sugarcane Bagasse: A Review. **Brazilian Archives Of Biology And Technology** 56, 679–680. 201

KIM, M. E.; NA, J. Y.; PARK, Y.; LEE, J. S. Anti-Neuroinflammatory Effects of Vanillin Through the Regulation of Inflammatory Factors and NF- $\kappa$ B Signaling in LPS-Stimulated Microglia. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 2018

KORTEKAAS, S.; VIDAL, G.; YAN-LING, H.; LETTINGA, G.; FIELD, J.A. Anaerobic-aerobic treatment of toxic pulping black liquor with upfront fluent recirculation. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. vol.86, p. 97-110, 1998.

LAMPMAN, G. M; ANDREWS, J.; BRATZ, W.; HANSSSEN, O.; KELLEY, K.; PERRY, D. RIDGEWAY, A. Preparation of vanillin from eugenol and sawdust. **Journal of Chemical Education**, v. 54, n. 12, p. 776, 1977.

LI, K.; FROST, J. W.. Synthesis of Vanillin from Glucose. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**. p. 10545-10546. set. 1998.

LINO, A. G. Composição química e estrutural da lignina e lipídios do bagaço e palha de cana-açúcar. Universidade Federal de Viçosa 2015.

MA, Q.; LIU, L.; ZHAO,S.; HUANG,Z.; LI, C.; JIANG,S.; LI,Q.; GU, P. **Biosynthesis of vanillin by diferent microorganisms: a review**. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 38:40, 2022.

MA, X.; DAUGULIS A. J. Effect of bioconversion conditions on vanillin production by *Amycolatopsis* sp. ATCC 39116 through an analysis of competing by-product formation. **Bioprocess Biosyst Eng.**, p. 891-899. set. 2013.

MA, X.; DAUGULIS A. J. Transformation of Ferulic Acid to Vanillin Using a Fed-Batch Solid–Liquid Two-Phase Partitioning Bioreactor. **Biotechnol. Prog.** p. 207-214. out. 2013.

MARKONI, M. A.; LAKATOS, E. M. **Fundamentos de metodologia científica. 6ª edição**. São Paulo: Editora Atlas, 2007.



MARTĂU, Gheorghe Adrian; CĂLINOIU, Lavinia-Florina; VODNAR, Dan Cristian. Bio-vanillin: Towards a sustainable industrial production. **Trends in Food Science & Technology**, v. 109, p. 579-592, 2021.

MARTAU, G. A.; CALINOIU, L. F.; VODNAR, D. C. Bio-vanillin: Towards a sustainable industrial production. **Trends in Food Science & Technology**. 2021

MERCADO DE VANILINA. in **Mordor Intelligence, 2022**. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/vanillin-market> Acesso em abr. 2023

Modo de Funcionamento da CENTRÍFUGA DECANter in **Flottweg, 2023**. Disponível em: <https://www.flottweg.com/pt/linha-de-produtos/decanter/funcionalidade-do-decanter/> Acesso em abr. 2023

MUTTALIB, S. H. A. Bioconversion of isoeugenol to vanillin with different strains of pseudomonas aeruginosa - **Faculty of Industrial Sciences and Technology University Malaysia Pahang**. 2014

NASCIMENTO, V. M. **PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO (NaOH) DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL E OBTENÇÃO DE XILOOLIGÔMEROS**. 2011. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos Centro de Ciências Exatas e Tecnologia Departamento de Engenharia Química, São Carlos, 2011.

OIS in **Organic Trade Association 2022**. Disponível em: <https://ota.com/market-analysis/organic-industry-survey/organic-industry-survey> Acesso em abr. 2023

OLIVEIRA, F. P. **Avaliação da aclimação de Pichia stipitis ao hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana e hierarquização da toxicidade dos inibidores celulares**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2010.

OU, S.; LUO, Y.; XUE, F.; HUANG, C.; ZHANG, N. LIU, Z.. Seperation and purification of ferulic acid in alkaline-hydrolysate from sugarcane bagasse by activated charcoal adsorption/anion macroporous resin exchange chromatography. **Journal of Food Engineering** **78**, p. 1298-1304. 2013.

PACHECO, S. M. V; JUNIOR, A. F.; MORGADO, A. F. **Uma revisão sobre rotas sintéticas e biotecnológicas para produção de vanilina**. Universidade Federal de Santa Catarina. 2007

PAUL, V.; RAI, D. C.; LAKSHMI, R.; KUMAR, S.; TRIPATHI, A. D. A comprehensive review on vanillin: its microbial synthesis, isolation and recovery. **Food Biotechnology**. p. 22-49. jan. 2021.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, N. Ferulic acid transformation into the main vanilla aroma compounds by *Amycolatopsis* sp. ATCC 39116. **Appl Microbiol Biotechnol**. p. 1677-1689. out. 2015.

PINTO, P. C. R.; DA SILVA, E.A.B.; RODRIGUES, A. E. Lignin as Source of Fine Chemicals:Vanillin and Syringaldehyde. 2012

RAGHAVA R. G.; ANUPAM S. What motivates consumers to buy organic foods? Results of an empirical study in the United States. **Plos One**. 2021

SANTOS, M. B. C. Biotransformação bacteriana de ácido ferúlico obtido de resíduo lignocelulósico a 4-vinilguaiacol. Sp. 2018.

U.S. ORGANIC FOOD MARKET in **GlobeNewswire** **2022**. Disponível em: <https://www.globenewswire.com/news-release/2022/1/25/2372820/0/en/United-State-Organic-Food-Market-Retains-Robust-Growth-Amid-the-Pandemic-Projected-to-Grow-at-a-CAGR-of-8-7-during-2021-2027-BlueWeave.html> Acesso em abr. 2023

VANILLIN in **ACS**, 2016. Disponível em: <https://www.acs.org/molecule-of-the-week/archive/v/vanillin.html> Acesso em abr. 2023

VIJAYALAKSHMI S.; XAVIER, D.; SRIVASTAVA, C.; ARUN, A. Vanilla-Natural Vs Artificial: A Review. **Research Journal of Pharmacy and Technology v. 12** (6). 2019

WICHNER, E. Vanilla: The black flower of the Aztecs in **Vallarta Eats**, 2018. Disponível em: <https://www.vallarta eats.com/vanilla-the-black-flower-of-the-aztecs/> Acesso em abr. 2023