

FÁBIO DE PAULA CAMPOS

**Viabilidade econômico-financeira no desenvolvimento de aminoácidos  
por bioprocessos a partir da cana-de-açúcar**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação Interunidades em  
Biotecnologia da Universidade de São  
Paulo, Instituto Butantan e Instituto de  
Pesquisas Tecnológicas para obtenção do  
Título de Mestre em Biotecnologia.

São Paulo  
2022

FÁBIO DE PAULA CAMPOS

**Viabilidade econômico-financeira no desenvolvimento de aminoácidos  
por bioprocessos a partir da cana-de-açúcar**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia da Universidade de São Paulo, Instituto Butantan e Instituto de Pesquisas Tecnológicas para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia

Orientadora: Profa. Dra. Rosane Aparecida Moniz Piccoli

Versão corrigida. A versão original eletrônica, encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

São Paulo  
2022

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica  
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

de Paula Campos, Fábio  
Viabilidade econômico-financeira no  
desenvolvimento de aminoácidos por Bioprocessos a  
partir da cana-de-açúcar / Fábio de Paula Campos;  
orientador Rosane Aparecida Moniz Piccoli. -- São  
Paulo, 2022.  
94 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade de São  
Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Biotecnologia. 2. Aminoácidos. 3. Cana-de-  
açúcar. 4. Triptofano. 5. Metionina. I. Aparecida  
Moniz Piccoli, Rosane, orientador. II. Título.

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia**  
Universidade de São Paulo, Instituto Butantan, Instituto de Pesquisas Tecnológicas

**FOLHA DE APROVAÇÃO DA BANCA**

Candidato: Fábio de Paula campos

Título da dissertação: Viabilidade econômico-financeira no desenvolvimento de aminoácidos por bioprocessos a partir da cana-de-açúcar.

Orientadora: Profa. Dra. Rosane Aparecida Moniz Piccoli

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada a \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_, considerou o candidato:

**Aprovado**       **Reprovado**

Examinador(a):

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Examinador(a):

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Examinador(a):

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Presidente:

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_



M

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", Butantã, São Paulo, SP - Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III - 05508 000  
Comissão de Ética em Pesquisa - Telefone (11) 3091-7733 - e-mail: cep@icb.usp.br

## CERTIFICADO DE ISENÇÃO

Certificamos que o Protocolo CEP-ICB nº **977/2018** referente ao projeto intitulado: "**Viabilidade econômico financeira no desenvolvimento de aminoácidos por bioprocessos a partir da cana-de-açúcar**" sob a responsabilidade de **Fábio de Paula Campos** e orientação do(a) Prof.(a) Dr.(a) **Gabriel Padilla Maldonado**, do Departamento de Microbiologia, foi analisado pela **CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais** e pelo **CEPSH - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos**, tendo sido deliberado que o referido projeto não utilizará animais que estejam sob a égide da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, nem envolverá procedimentos regulados pela Resolução CONEP nº 466/2012.

São Paulo, 17 de agosto de 2018.

*Luciane Valéria Sita*

Profa. Dra. **Luciane Valéria Sita**  
Coordenadora CEUA ICB/USP

Profa. Dra. **Camila Squarzon Dale**  
Coordenadora CEPSH ICB/USP

<b>EXPEDIÇÃO</b>
DATA: 30.8.18
REL. N.º 924



Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", Butantã, São Paulo, SP - Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III - 05508  
000 Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências Biomédicas da USP - Telefone (11) 3091-7733 - e-mail:  
cep@icb.usp.br

Decl. CEP.08.2021

### DECLARAÇÃO

Em adendo ao Certificado de Isenção CEP nº **977/2018**, aprovado em 17/08/2018, e por solicitação da Profa. Dra. **Rosane Aparecida Moniz Piccoli**, Docente do Instituto de Pesquisas Tecnológicas da USP e do Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/IPT/Butantan, declaramos que esta assumiu a orientação do aluno: **Fabio de Paula Campos**, referente ao projeto intitulado: **"Viabilidade econômico financeira no desenvolvimento de aminoácidos por bioprocessos a partir da cana-de-açúcar"**, anteriormente orientado pelo Prof. Dr. Gabriel Padilla Maldonado.

São Paulo, 18 de agosto de 2021.

Profa. Dra. **Luciane Valéria Sita**  
**Dale** Coordenadora CEUA ICB/USP

Profa. Dra. **Camila Squarzoni**  
Coordenadora CEPESH ICB/USP

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais Marly e Solon, por instigarem em mim a curiosidade científica e me proporcionarem toda a base e educação necessárias para persegui-la.

À professora Rosane, por ter me apoiado em todo o processo, com paciência e dedicação que me permitiram preencher as lacunas do meu conhecimento e assim construir esta singela contribuição.

À minha esposa, Aline, por me apoiar e estimular, com paciência e alegria durante toda esta longa jornada.

Ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia da Universidade de São Paulo e a todos os seus professores e profissionais, por organizarem e facilitarem todo o processo de aquisição de conhecimento nesta nobre área da biotecnologia.

E a todos os gigantes e gigantas, nos ombros dos quais todos nós apoiamos para construir um mundo melhor.

## RESUMO

CAMPOS, Fabio de Paula. **Viabilidade econômico-financeira no desenvolvimento de aminoácidos por bioprocessos a partir da cana-de-açúcar**. 2022. 94 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, Instituto Butantan, Instituto de Pesquisas Tecnológicas, São Paulo, 2022.

A cana-de-açúcar é uma das culturas de maior importância econômica em todo o mundo e certamente uma das mais importantes no Brasil, desde os tempos coloniais. A partir da cana é possível produzir não apenas o açúcar e o etanol, mas uma série de produtos, destacando-se os aminoácidos e nos últimos anos, inovações no campo da biotecnologia, tem facilitado o desenvolvimento de bioprocessos para a produção de aminoácidos. O presente trabalho visa responder à pergunta: É economicamente viável produzir aminoácidos a partir da sacarose da cana-de-açúcar no Brasil? O trabalho avaliou o cenário mercadológico e a possibilidade de produção de cada um dos nove aminoácidos essenciais, selecionando a metionina e o triptofano para aprofundamento. Este aprofundamento mostrou que a bioprodução do triptofano a partir da cana-de-açúcar é economicamente viável, com Taxa Interna de Retorno da ordem de 17,4% ao ano. Já a produção de metionina não se mostrou economicamente viável, gerando margem bruta negativa e sendo incapaz de trazer lucro ao produtor. No que diz respeito à produção de metionina, sugere-se a realização de novos estudos centrados na realização de modificações genéticas em linhagens de *Escherichia coli* ou *Corynebacterium glutamicum*, de forma a aumentar a eficiência da produção, o que pode tornar a produção do aminoácido por rota biotecnológica viável, até mesmo para o pequeno e médio produtor.

**Palavras-chave:** Aminoácidos. Biotecnologia. Bioprocessos. Bioprodução. Cana de açúcar. Engenharia genética. Fenilalanina. Histidina. Isoleucina. Leucina. Lisina. Metionina. Treonina. Triptofano. Valina. SuperPro Designer®. Viabilidade econômica. Taxa interna de retorno.



## ABSTRACT

CAMPOS, Fabio de Paula. **Economic-financial feasibility in the development of amino acids by bioprocesses from sugarcane**. 2022. 94 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, Instituto Butantan, Instituto de Pesquisas Tecnológicas, São Paulo, 2022.

Sugarcane is one of the most important agricultural products in the world, and certainly one of the most important export products in Brazil, ever since colonial time. From sugarcane many products can be obtained (not only sugar and ethanol) with distinction to amino acids and recent developments in biotechnology have facilitated the development of bioprocesses for amino acid production. This work aims to answer the question: Is the bioproduction of amino acids using sugarcane economically viable in Brazil? In it, the market scenario and production feasibility of all nine essential amino acids was investigated and methionine and tryptophan were selected for deeper analysis. The study shows that the bioproduction of tryptophan from sugarcane is in fact economically viable, with Internal Rate of Return of 17,4% per year. The production of methionine, on the other hand, did not prove economically viable, presenting negative gross margin and being incapable of generating profits to the producer. With respect to methionine production, we advise further studies focused on genetic modifications of *Escherichia coli* or *Corynebacterium glutamicum*, in order to permit higher conversion rates which may lead to the economically viable bioproduction of the amino acid, even to the small and medium size sugarcane producer.

**Keywords:** Amino acids. Biotechnology. Bioprocess. Bioproduction. Sugarcane. Genetic engineering. Phenylalanine. Histidine. Isoleucine. Leucine. Lysine. Methionine. Threonine. Tryptophan. Valine. SuperPro Designer™. Economic viability. Return rate.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Produtos a partir da cana-de-açúcar. ....	15
<b>Figura 2</b> - Esquema da bioprodução de glutamato. ....	16
<b>Figura 3</b> - Ciclo metabólico que leva a produção de alguns aminoácidos. ....	18
<b>Figura 4</b> - Modelo de funcionamento do sistema CRISPR-Cas9 em bactérias. ....	24
<b>Figura 5</b> - Uso do sistema CRISPR-Cas9 para edição genética. ....	25
<b>Figura 6</b> – Estrutura molecular da lisina. ....	26
<b>Figura 7</b> – Vias metabólicas da produção de lisina. ....	27
<b>Figura 8</b> – Produção de lisina em <i>C. bacterium</i> geneticamente modificada. ....	28
<b>Figura 9</b> – Estrutura molecular da histidina. ....	29
<b>Figura 10</b> - Metabolismo da histidina em <i>S. cerevisiae</i> . ....	30
<b>Figura 11</b> - Estrutura molecular da leucina. ....	31
<b>Figura 12</b> - Metabolismo da leucina em bactérias. ....	32
<b>Figura 13</b> - Modificações em linhagem de <i>C. glutamicum</i> para produção de leucina. ....	33
<b>Figura 14</b> - Estrutura molecular da Isoleucina. ....	34
<b>Figura 15</b> – Via metabólica que leva à produção de isoleucina em <i>C. glutamicum</i> . ....	35
<b>Figura 16</b> - Estrutura molecular da fenilalanina. ....	36
<b>Figura 17</b> - Via metabólica da fenilalanina e outros aminoácidos aromáticos. ....	38
<b>Figura 18</b> - Estrutura molecular da metionina. ....	39
<b>Figura 19</b> - Metabolismo da metionina em bactérias. ....	40
<b>Figura 20</b> - Molécula de L-treonina. ....	42
<b>Figura 21</b> - Metabolismo da Treonina. ....	44
<b>Figura 22</b> - Estrutura molecular do triptofano. ....	45
<b>Figura 23</b> – Destino e funções do triptofano em mamíferos. ....	46
<b>Figura 24</b> - Síntese do triptofano a partir do corismato. ....	47
<b>Figura 25</b> - Rota metabólica do triptofano em <i>E. Coli</i> . ....	47
<b>Figura 26</b> - Molécula da valina. ....	48
<b>Figura 27</b> - Metabolismo da valina e estratégias para aumento de sua produção. ....	49
<b>Figura 28</b> - Estágios da escala TRL - Technology Readiness Level. ....	52
<b>Figura 29</b> - Metabolismo do triptofano em <i>E. coli</i> . ....	56
<b>Figura 30</b> - Processo produtivo do triptofano, simulado no SuperPro Designer® ....	58
<b>Figura 31</b> - Funcionamento de um trocador de calor tubular do tipo hairpin. ....	59
<b>Figura 32</b> - Esquema de um tanque de mistura. ....	60
<b>Figura 33</b> - Exemplo de reator de inóculo da empresa chinesa Nanquan Chemical. ....	61
<b>Figura 34</b> - Modelo de centrifuga de decantação. ....	62
<b>Figura 35</b> - Funcionamento de uma coluna de evaporação do tipo "Falling Film". ....	63
<b>Figura 36</b> – Esquema de um cristalizador de circulação forçada. ....	64
<b>Figura 37</b> - Funcionamento de um tambor de filtração à vácuo. ....	65
<b>Figura 38</b> - Esquema ilustrativo do funcionamento de um equipamento <i>Fluid Bed Dryer</i> . ...	66
<b>Figura 39</b> - Custos envolvidos na bioprodução de triptofano ....	68
<b>Figura 40</b> - Organograma de empresa para produção anual de 95 toneladas de triptofano. ...	69
<b>Figura 41</b> - Principais custos e despesas para bioprodução do triptofano. ....	70
<b>Figura 42</b> - Metabolismo da metionina em <i>C. glutamicum</i> e em <i>E. coli</i> . ....	76
<b>Figura 43</b> - Processo produtivo da metionina, simulado no software SuperPro Designer® ...	78
<b>Figura 44</b> - Custos envolvidos na bioprodução de metionina ....	80
<b>Figura 45</b> - Principais custos e despesas para bioprodução de metionina. ....	81

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Ingestão diária de aminoácidos essenciais para uma pessoa de 80kg.....	19
<b>Tabela 2</b> - Principais fabricantes de aminoácidos.....	22
<b>Tabela 3</b> - Pontuações de aminoácidos essenciais e os critérios de seleção.....	54
<b>Tabela 4</b> - Equipamentos para produção de triptofano.....	67
<b>Tabela 5</b> - Matérias primas necessárias para a bioprodução de triptofano.....	68
<b>Tabela 6</b> - Quadro de funcionários e salários do empreendimento de triptofano.....	70
<b>Tabela 7</b> - Projeção de receita do empreendimento de bioprodução de triptofano.....	72
<b>Tabela 8</b> - DRE projetada para o empreendimento de triptofano.....	73
<b>Tabela 9</b> – Balanço Patrimonial projetado para o empreendimento de triptofano.....	74
<b>Tabela 10</b> - Fluxo de caixa projetado para o empreendimento de triptofano.....	74
<b>Tabela 11</b> - Custo de capital e taxa de retorno do empreendimento de triptofano.....	75
<b>Tabela 12</b> - Parâmetros para otimização da produção de L-metionina.....	77
<b>Tabela 13</b> - Equipamentos para produção de metionina.....	79
<b>Tabela 14</b> - Matérias primas necessárias para a bioprodução de metionina.....	80
<b>Tabela 15</b> - Projeção de receita do empreendimento de bioprodução de metionina.....	82
<b>Tabela 16</b> – Demonstração de Resultados do Exercício para a produção de metionina.....	83
<b>Tabela 17</b> – Balanço Patrimonial projetado para o empreendimento de metionina.....	84
<b>Tabela 18</b> – Fluxo de caixa projetado para o empreendimento de metionina.....	84
<b>Tabela 19</b> - Alterações hipotéticas na produção de metionina e impacto na rentabilidade.....	85
<b>Tabela 20</b> – Premissas usadas para o modelo de produção de triptofano.....	93
<b>Tabela 21</b> – Sensibilidade do retorno da produção de triptofano em relação à taxa de câmbio .....	93
<b>Tabela 22</b> – Premissas usadas para o modelo de produção de triptofano.....	94
<b>Tabela 23</b> – Sensibilidade do retorno da produção de triptofano em relação à taxa de câmbio .....	94

## LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA(s) – Aminoácido(s)

AHAS – Acetohidroxiácido

AHAIR - Acetohidroxiácido isômero-redutase

BNDES – Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico

BP – Balanço patrimonial

Capex – *Capital expenditure* (investimentos em ativos imobilizados)

Cas9 – CRISPR associated protein 9

CRISPR – *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas)

DHAD - Dihidroxiácido desidratase

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DRE – Demonstração de resultados do exercício

E4P - Eritrose-4-fosfato

Met - Metionina

MSG - Glutamato monossódico

mTOR – Mammalian Target of Rapamycin - Rapamicina

PEP – Fosfoenolpiruvato

PHA - Polihidroxiacanoatos

PLA - Poliláticos

TA – Transaminase

TIR – Taxa interna de retorno

TRL – *Technology readiness level* (método para avaliar a maturidade de tecnologias)

Trp - Triptofano

## SUMÁRIO

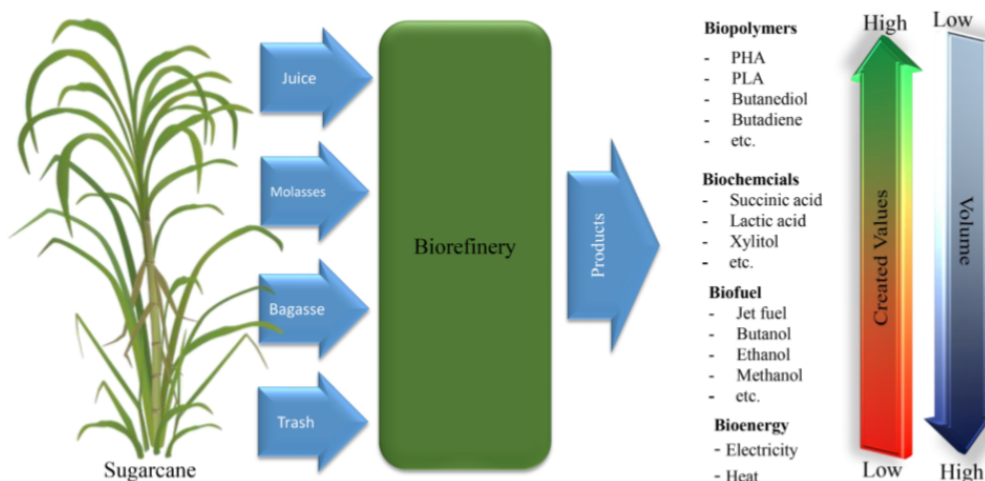
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	17
2.11. Aminoácidos, Aspectos Técnicos e Comerciais .....	17
2.1. Estado da Arte da Produção Biotecnológica de Aminoácidos Essenciais .....	22
2.2. Lisina .....	25
2.3. Histidina .....	28
2.4. Leucina .....	31
2.5. Isoleucina .....	34
2.6. Fenilalanina .....	36
2.7. Metionina .....	39
2.8. Treonina .....	42
2.9. Triptofano .....	45
2.10. Valina .....	48
<b>3. OBJETIVO DO ESTUDO</b> .....	50
3.1. Objetivos Específicos .....	50
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	50
4.1. Análise da literatura e pesquisa de mercado .....	50
4.2. Seleção dos aminoácidos essenciais .....	51
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	54
5.1. Critérios e Tabela de Pontuação .....	54
<b>5.2. Produção de Triptofano</b> .....	55
5.2.1 Escolha e construção do microrganismo .....	55
5.2.2. Estrutura produtiva e CAPEX .....	58
5.2.3. Custos de Produção .....	67
5.2.4. Despesas e Pessoal .....	69
5.2.5. Receita e Mercado .....	71
5.2.6. Lucratividade e Retorno .....	72
5.3. Produção de Metionina .....	76
5.3.1. Escolha e construção do microorganismo .....	76
5.3.2. Estrutura produtiva e CAPEX .....	77

5.3.3. Custos de Produção .....	79
5.3.4. Despesas e Pessoal .....	80
5.3.5. Receita e Mercado .....	81
5.3.6. Lucratividade e Retorno .....	82
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>86</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>88</b>
<b>8. APÊNDICE .....</b>	<b>93</b>
8.1. Premissas financeiras usadas para o modelo de produção de triptofano.....	93
8.2. Sensibilidade do Modelo de Produção de Triptofano em Relação à taxa de câmbio (BRL/US\$) .....	93
8.3. Premissas Financeiras usadas para o Modelo de Produção de Metionina .....	94
8.2. Sensibilidade do Modelo de Produção de Metionina em Relação à Taxa de Câmbio (BRL/US\$) .....	94

## 1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar originou-se na Ásia e é hoje uma das culturas de maior importância econômica em todo o mundo. Gramínea da família das Poaceae (que também engloba culturas como o milho, trigo, arroz e sorgo), a cana-de-açúcar tem uma grande capacidade de conversão de energia solar em biomassa, sendo 75% de sua massa concentrada no caule da planta, que por sua vez contém cerca de 11-16% de fibras, 12-16% de açúcares solúveis, 63-73% de água e 2-3% de outros compostos.

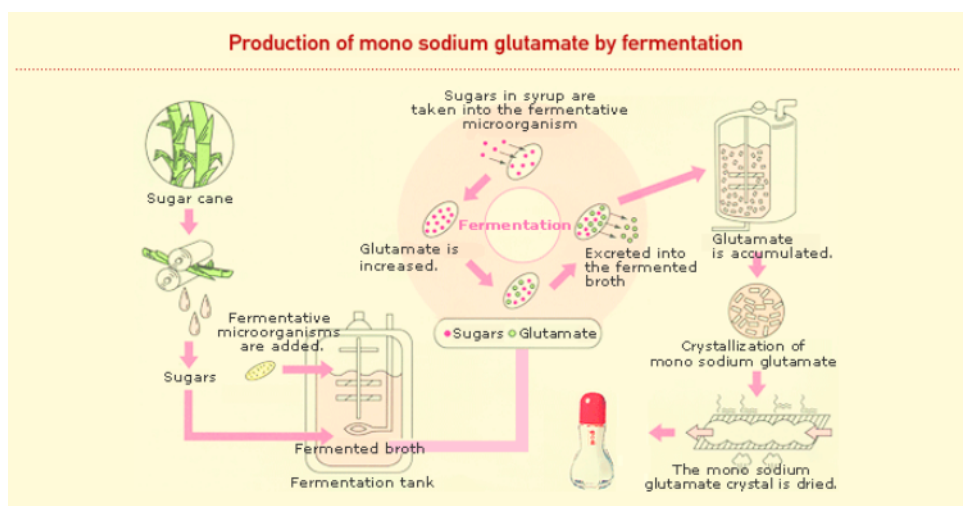
O Brasil é um dos principais produtores de cana-de-açúcar do mundo, responsável por 38,8% da produção global deste vegetal, o que corresponde a uma produção anual de cerca de 740 milhões de toneladas (MANDEGARI; FARZAD; GÖRGENS, 2017). A cana-de-açúcar tem como principais destinações econômicas a produção do açúcar e de combustíveis (etanol), ademais, a partir da cana é possível produzir uma série de produtos, análogos a derivados do petróleo, tais como biopolímeros (butanodiol, polihidroxialcanoatos - PHA, poliláticos – PLA, etc.) e compostos químicos (ácido lático, ácido succínico), muitos deles produtos de alto valor agregado e que, por sua origem biológica, geram menor impacto ao meio ambiente que as alternativas derivadas do petróleo. A Figura 1, retirada de Mandegari, Farzad e Görgens (2017), ilustra alguns dos produtos que podem ser originados da cana-de-açúcar.



**Figura 1** - Produtos a partir da cana-de-açúcar.

Fonte: Mandegari, Farzad e Görgens (2017).

Uma das possíveis utilizações da sacarose da cana-de-açúcar é a produção de aminoácidos através de processos biotecnológicos. Muitos dos aminoácidos assim produzidos são utilizados para complementação da nutrição animal, na indústria farmacêutica e como insumo na indústria de alimentos. Nesses bioprocessos, bactérias são selecionadas com base na sua eficiência metabólica na conversão do substrato disponível (sacarose) nos aminoácidos desejados. Essas bactérias são então geneticamente modificadas para aumento da eficiência dos caminhos metabólicos envolvidos na produção. O cultivo das bactérias é conduzido em biorreatores, onde condições como pressão, temperatura, pH e disponibilidade de oxigênio são precisamente controladas, de forma a maximizar a eficiência do processo (D'ESTE et al. 2018). A Figura 2, retirada do *site* da Ajinomoto, um grande produtor de aminoácidos e outros aditivos para alimentação, ilustra a produção de um aminoácido (o glutamato) a partir da sacarose.



**Figura 2** - Esquema da bioprodução de glutamato.

Fonte: <https://www.ajinomoto.com/features/amino/lets/product/>

O consumo mundial de açúcar vem apresentando baixo crescimento e até mesmo sinais de estagnação, com crescimento da ordem de 1,4% ao ano previsto para o período entre 2019 a 2029<sup>1</sup> (OECD AGRICULTURE STATISTICS, 2019). Refletindo em parte esta realidade (e o conseqüente reflexo no preço do açúcar no mercado internacional), produtores brasileiros de cana-de-açúcar já destinam cerca de 55% da produção para a fabricação de

<sup>1</sup> OECD AGRICULTURE STATISTICS. Oecd (ed.). **Figure 1.35. Food consumption in 2020/21 (COVID-scenario vs. baseline)**. *Oecd Ilibrary*, [S.L.], 2019. Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD). <http://dx.doi.org/10.1787/888934141665>. Disponível em: <https://www.oecd-ilibrary.org/sites/3736a600-en/index.html?>



etanol, segundo a OECD<sup>2</sup>, no entanto, o surgimento de novas tecnologias que substituem esse biocombustível como matriz energética, tais como motores elétricos, painéis solares e o desenvolvimento de baterias mais eficientes, põe em dúvida o futuro do etanol como combustível. Neste cenário e dada a importância econômica da cana-de-açúcar para o Brasil, produtores e a indústria canavieira, em geral, têm buscado o desenvolvimento de outros produtos a partir da cana-de-açúcar, tais como polímeros e aminoácidos. A produção de aminoácidos a partir da sacarose da cana-de-açúcar em escala industrial, no entanto, é ainda incipiente e relativamente cara, de forma que são necessários aprimoramentos nos processos produtivos para garantir maior eficiência na produção, assim como estudos de viabilidade técnica e econômica para a produção em escala industrial de alguns aminoácidos.

Este trabalho visa responder à pergunta: É economicamente viável produzir aminoácidos a partir da sacarose da cana-de-açúcar no Brasil? A análise de viabilidade econômica considera tanto os aspectos técnicos da produção de aminoácidos em escala industrial através de processos biotecnológicos, utilizando microrganismos e tecnologias já explorados na literatura científica, quanto o ambiente econômico do mercado dos diferentes aminoácidos essenciais, levando em conta a disponibilidade e a eficiência de métodos produtivos, os principais insumos e seus fornecedores e mercado consumidor.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

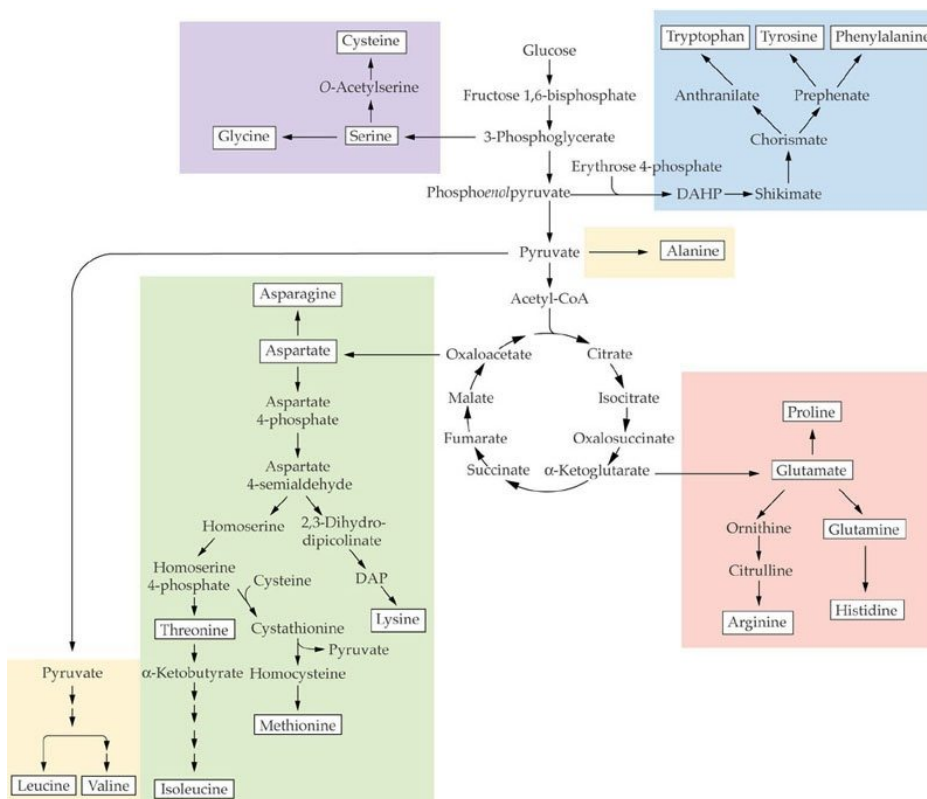
### **2.11. Aminoácidos, Aspectos Técnicos e Comerciais**

Como componentes formadores das proteínas, os aminoácidos podem ser considerados os componentes fundamentais da vida. Além do papel na formação das proteínas, os aminoácidos estão envolvidos na regulação de processos metabólicos importantes e atividades cruciais para o crescimento e manutenção de organismos (D'ESTE et al. 2018). Dos 20 aminoácidos mais comuns, os 9 conhecidos como essenciais, L-valina, L-leucina, L-isoleucina, L-lysina, L-threonina, L-metionina, L-histidina, L-fenilalanina, e L-triptofano ocupam um papel de destaque, uma vez que eles não são sintetizados em animais ou em humanos, portanto, precisam ser ingeridos na alimentação (LEUCHTENBERGER, 2005). Esta incapacidade de produzir alguns aminoácidos é devida, em última análise, à perda de genes envolvidos na produção de enzimas críticas para execução de determinados passos

---

<sup>2</sup><https://www.wilibrary.oecdilibrary.org/sites/3736a600en/index.html?itemId=/content/component/3736a60-en>

no metabolismo destes aminoácidos. A Figura 3 ilustra o ciclo metabólico de alguns aminoácidos:



**Figura 3** - Ciclo metabólico que leva a produção de alguns aminoácidos

Fonte: <https://www.quora.com/Why-cant-the-body-make-essential-amino-acids>

Como podemos observar na figura, o ciclo metabólico dos aminoácidos parte de subprodutos ou etapas intermediárias da glicólise e do ciclo de *Krebs* e, utilizando enzimas específicas, leva passo a passo à formação de distintos aminoácidos. Na história evolutiva dos humanos e outros mamíferos, genes que codificam a produção destas enzimas perdeu-se e esta perda se manteve porque os indivíduos que sofreram essas mutações foram capazes de obter esses aminoácidos, que se foram, na alimentação, mantendo-se como organismos viáveis e capazes de se reproduzir.

Os nossos ancestrais perderam, por exemplo, a capacidade de transformar piruvato em leucina e valina (porção amarela da Figura 3), assim como a enzima que transforma aspartato nos demais precursores da Isoleucina, Metionina e Lisina (porção verde do quadro acima) e assim por diante.

A deficiência de aminoácidos é o fator responsável por diversas doenças, tanto em humanos quanto em animais (PAUL et al., 2014; WU et al., 2004). A Tabela 1 traz a ingestão recomendada diária de aminoácidos essenciais para uma pessoa de 80 kg.

**Tabela 1** - Ingestão diária de aminoácidos essenciais para uma pessoa de 80kg.

<b>Aminoácido essencial</b>	<b>Ingestão diária recomendada (mg/dia)</b>
Histidina	980
Isoleucina	1330
Leucina	2940
Lisina	2660
Metionina	1330
Fenilalanina	2310
Treonina	1400
Triptofano	350
Valina	1680

Fonte: Academia norte-americana de ciências, engenharia e medicina ([www.nap.edu](http://www.nap.edu)).

A produção industrial e o mercado global de aminoácidos vêm ganhando maior importância, desde o início da produção do glutamato monossódico (MSG) em 1907. Desde então, aminoácidos ocupa um lugar de destaque em diversas indústrias, em especial para a produção/enriquecimento de ração animal, como flavorizantes ou aditivos na alimentação humana e como moléculas precursoras de fármacos na indústria farmacêutica. O mercado global de aminoácidos foi estimado em US\$11,6 bilhões no ano de 2015 (MAHMOOD Z., 2014) e tem crescido rapidamente, impulsionado sobretudo pelo aumento na demanda de proteína animal em países subdesenvolvidos (com conseqüente aumento da demanda por aditivos à ração animal). O mercado global de aminoácidos movimentou cerca de US\$28,6 bilhões em 2020 e deve seguir em crescimento à taxa de cerca de 6% ao ano, chegando a cerca de US\$40,6 bilhões até 2026.<sup>3</sup>

Existem quatro formas principais para produção de aminoácidos:

- 1- **Extração por hidrólise proteica:** A extração por hidrólise proteica é um método que se baseia nas diferentes propriedades físico-químicas dos aminoácidos para quebrar proteínas, liberando os aminoácidos diferentes (ZHANG et al., 2014).

<sup>3</sup> RESEARCH AND MARKETS. GlobeNewsWire (ed.). **Global Amino Acid Market (2021 to 2026):** by product type, source and region. by Product Type, Source and Region. 2021. Disponível em: <https://www.globenewswire.com/news-release/2021/09/03/2291440/28124/en/Global-Amino-Acid-Market-2021-to-2026-by-Product-Type-Source-and-Region.html>. Acesso em: 24 maio 2022.

Devido a esta característica, este método é capaz de produzir em escala industrial apenas alguns aminoácidos, em particular a L-cisteína, L-leucina e L-tirosina (IKEDA, 2003). Este método de produção de aminoácidos traz alguns problemas, em especial a formação de resíduos e contaminação de grandes volumes de água devido à necessidade de lavagem dos produtos usando soluções alcalinas (SEREEWATTHANAWUT et al., 2008; LÜTKE-EVERSLOH et al., 2007) e o fato de que o método depende da disponibilidade de grandes quantidades de produtos animais ou humanos ricos em proteínas (como pelos/cabelos, unhas, cascos, entre outros), o que representa um gargalo para o aumento de sua produção (D'ESTE et al. 2018)

2- **Síntese química:** A síntese química de aminoácidos é historicamente o método tradicional para produção de aminoácidos como a glicina ou de misturas racêmicas (que contém tanto as versões levogiras quanto as dextrogiras) de aminoácidos como a metionina e a alanina (D'ESTE et al. 2018). A primeira síntese desta natureza foi reportada em 1850 e ficou conhecida como a síntese de Strecker, neste método, a conversão de um aldeído ou cetona e amina ou amônia em  $\alpha$ -aminoácidos pode ser feita por meio de catalisadores ácidos, cianeto metálico e água (D'ESTE et al. 2018). Embora seja um método ainda bastante utilizado para a produção de alguns aminoácidos, a síntese química traz grandes riscos à saúde e ao meio ambiente devido ao uso de cianetos, além de ser um processo potencialmente caro, já que carece da utilização de catalisadores que também precisam ser sintetizados e adquiridos no mercado (ZUEND et al., 2009). Outro problema associado à síntese química é o fato de que esses processos produzem misturas racêmicas dos aminoácidos, de forma que geralmente é necessária a adição de uma etapa de separação óptica, com o uso de enzimas de alto valor agregado (o que acarreta alto custo de produção), uma vez que a maior parte dos seres vivos é capaz de utilizar apenas o enantiômero levogiro de cada aminoácido (D'ESTE et al. 2018).

3- **Conversão enzimática:** Essa forma de síntese envolve a utilização de uma ou mais enzimas para catalisar a produção do(s) aminoácido(s) de interesse. Diferentes enzimas já foram utilizadas para este fim, tais como enzimas hidrolíticas, liases amônicas, L-aminácido desidrogenases dependentes de  $\text{NAD}^+$ , etc. A maior parte

dessas enzimas é, por sua vez, produzida por microrganismos como *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pseudomonas dacunhae* e *Cryptococcus luredii* (D'ESTE et al. 2018). Uma das vantagens desse método de produção está na capacidade de produzir volumes óticamente puros de aminoácidos, sendo possível produzir apenas o enantiômero levogiro das moléculas. O alto custo e baixa estabilidade das enzimas, no entanto, fazem com que este método seja pouco utilizado para produção de aminoácidos em escala industrial, usado apenas para alguns produtos, como ácido aspártico e alanina (ZHAO et al., 2014).

4- **Bioprocesso:** Atualmente a maior parte da produção de aminoácidos em escala industrial é feita pela via biotecnológica. Nos bioprocessos, diferentes microrganismos são cultivados em condições aeróbicas ou anaeróbicas (processo fermentativo), utilizando alguma fonte de carbono principal (como a sacarose) e produzindo o(s) aminoácido(s) de interesse. Através do estudo e controle minucioso das rotas metabólicas desses organismos, bem como da seleção e/ou modificação genética, é possível obter linhagens extremamente eficientes na conversão de determinada fonte de carbono em aminoácidos. As principais vantagens da via biotecnológica para a produção de aminoácidos estão no fato de que este processo produz apenas a formação de aminoácidos levogiros, dispensando etapas adicionais de separação óptica e o fato de que as condições para sua produção são menos extremas do que nos demais métodos (em termos de temperatura, pH e pressão), o que se traduz em maior estabilidade das moléculas e menores impactos ambientais (D'ESTE et al. 2018). A Tabela 2 ilustra os principais fabricantes globais de aminoácidos.

**Tabela 2 - Principais fabricantes de aminoácidos.**

<b>Fabricante</b>	<b>Sede</b>	<b>Principais aminoácidos produzidos</b>
Ajinomoto Co. Inc.	Japão	Lisina; Metionina; Treonina; Glicina; Leucina; Triptofano; Isoleucina; Citrulina
KYOWA HAKKO BIO CO. LTD.	Japão	Argenina; Alanina; Glutamina; Histidina; Leucina; Serina; Treonina
AMINO GmbH	Alemanha	Serina; Glicina; Alanina; Cisteína; Ácido glutâmico; Glutamina; N-acetil-metionina
Bill Barr & Company	Estados Unidos	Lisina; Treonina; Triptofano; Valina; Metionina; Taurina; Glicina; Tirosina; Isoleucina; Argenina; Cistina
IRIS BIOTECH GMBH	Alemanha	Tirosina; Valina; Triptofano; Serina; Fenilalanina; Lisina; Glicina
Taiwan Amino Acids Co. Ltd.	Taiwan	Tirosina; Cisteína; Leucina
BI Neutraceuticals	Estados Unidos	Fenilalanina; Glutamina; Triptofano; Tirosina
Sichuan Tongsheng Amino acid Co., Ltd	China	Tirosina; Triptofano
Wacker Chemie AG	Alemanha	Cisteína
CJ CheilJedang Corp.	Coréia do Sul	Valina; Histidina; Treonina; Triptofano; Argenina; Cisteína
Donboo Amino Acid Co.,Ltd.	China	Lisina; Alanina; Arginina; Cisteína; Leucina;
Evonik Industries AG	Alemanha	Alanina; Metionina; Serina

Fonte: Amino Acids Market Estimates and Forecasts To 2027, Grand View Research, Inc. USA.

A escolha do método para produção de cada aminoácido considera diversos critérios, como a necessidade de investimento em plantas produtivas, a disponibilidade de matérias primas, o tamanho do mercado, entre outras.

## 2.1. Estado da Arte da Produção Biotecnológica de Aminoácidos Essenciais

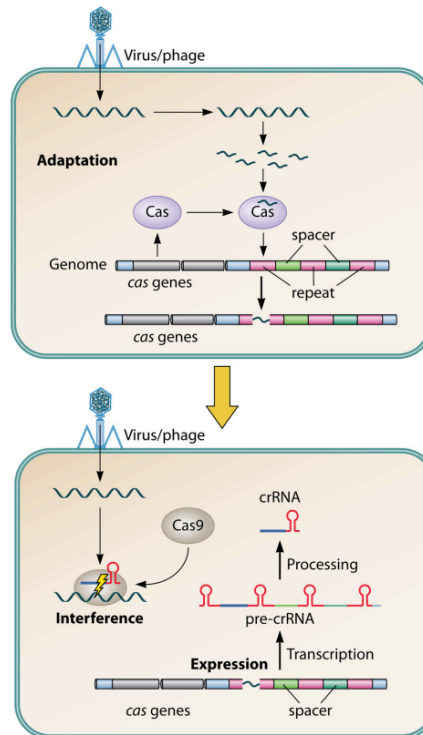
Alguns estudos já foram realizados com o intuito de verificar a viabilidade econômica da produção de aminoácidos (em especial a Metionina: aminoácido amplamente utilizado na indústria de ração animal), notoriamente o estudo “Potencial de diversificação da indústria química brasileira – Relatório 6 – Modelo econômico-financeiro: metionina”, elaborado pelo (BNDES), que analisa em termos amplos a viabilidade de estabelecimento de uma super planta para produção de metionina, nos moldes da fábrica da *CJ Cheiljedang Bio* na Malásia,

primeira planta de produção de metionina por via biotecnológica de escala comercial, com capacidade para produção anual de 80 mil toneladas de Metionina e investimento (Capex) da ordem de US\$700 milhões.

Estabelecer um processo viável para produção de aminoácidos por rota biotecnológica exige a seleção de um microrganismo eficiente na conversão da fonte de carbono no aminoácido de interesse. A engenharia genética e o conhecimento científico sobre o metabolismo das bactérias têm permitido cada vez mais a otimização racional desses organismos, por meio de modificações genéticas que levam, por exemplo, à supressão de vias concorrentes à produção do aminoácido, inibição de mecanismos de *feedback*, super expressão de vias de interesse e estímulo à excreção do produto para o meio extracelular. Nas últimas décadas, o processo de modificação genética de microrganismos foi realizado por meio do uso de enzimas (endonucleases) de restrição, enzimas que cortam o Ácido Desoxirribonucleico (DNA) em locais específicos, segundo uma determinada sequência de nucleotídeos. Apesar de muito utilizado, o método de criação de DNA recombinante, utilizando enzimas de restrição, apresenta algumas limitações. Primeiramente, como as enzimas de restrição identificam e cortam sequências curtas do DNA, que geralmente ocorrem diversas vezes no cromossomo ou plasmídeo, os cortes são feitos em múltiplos locais diferentes, gerando modificações não desejadas no organismo. A inserção da sequência de interesse (DNA estranho) também não ocorre em 100% das instâncias, pois a fita muitas vezes liga-se a si mesma, fechando o plasmídeo sem incorporá-la. Devido a estes problemas, é necessário verificar quais plasmídeos de fato incorporaram a sequência de interesse em locais adequados e separá-los dos demais, tornando o processo de modificação genética por meio de enzimas de restrição laborioso e relativamente lento.

Em vista disso, em 2012 surge uma técnica que supera essas limitações da modificação genética por enzimas de restrição, conferindo muito mais especificidade e agilidade ao processo, um sistema chamado de CRISPR-Cas9. A sigla CRISPR significa Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat, enquanto a Cas9 é uma enzima responsável pelo corte de material genético, chamada de CRISPR Associated Protein 9. O sistema é parte fundamental do aparato imunológico bacteriano. Com este sistema, uma vez que uma bactéria é invadida por material genético viral, a bactéria pode cortar pequenos pedaços do material viral, reservando-os junto a seu próprio material genético em meio às regiões CRISPR como uma espécie de memória. Em determinados momentos, como em casos de novas infecções por bacteriófagos, a bactéria é capaz de formar o CRISPR-RNA, que atua

ligando-se ao material genético viral e atraindo mais enzimas Cas-9, que fazem o corte deste material, inativando o vírus, como ilustrado na Figura 4.

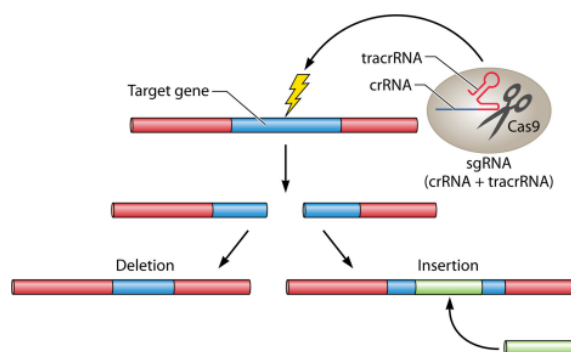


**Figura 4** - Modelo de funcionamento do sistema CRISPR-Cas9 em bactérias.

Fonte: ISHINO et al. 2018.

Em 2012, as pesquisadoras Emmanuelle Charpentier e Jennifer Doudna descreveram como este aparato do sistema imunológico bacteriano poderia ser utilizado para identificar sequências específicas de nucleotídeos e cortá-las em locais exatos, reconectando o material em locais também previamente definidos, como mostra a Figura 5. Era o início da utilização do sistema CRISPR-Cas9 para edição genômica (em 2020, ambas as pesquisadoras ganharam o prêmio Nobel de química por esta descoberta) (ISHINO et al. 2018).





**Figura 5** - Uso do sistema CRISPR-Cas9 para edição genética.

Fonte: ISHINO et al. 2018.

Desde então, o sistema CRISPR-Cas9 tem sido amplamente utilizado, possibilitando a realização de modificações genéticas extremamente precisas e rápidas, o que levou a uma imensa diminuição no custo e no tempo necessários para a construção de organismos geneticamente modificados.

## 2.2. Lisina

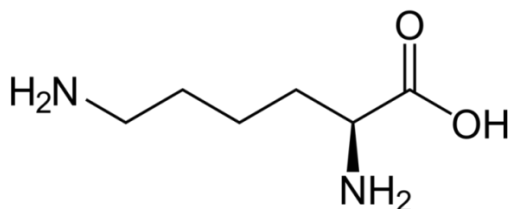
A lisina é um dos aminoácidos fundamentais de maior importância econômica no mundo, já que é um dos principais aditivos em ração animal, sobretudo na criação de porcos (onde o aminoácido é o primeiro limitante do crescimento) e de aves (onde é o segundo limitante) (LEUCHTENBERGER, 2009). A adição de lisina permite aos criadores de porcos e aves utilizarem rações com menor teor proteico e, conseqüentemente, menor custo, o que traz vantagens econômicas importantes para a atividade de criação.

A lisina está presente sobretudo em alimentos ricos em proteína, como carnes e peixes, mas também em alguns vegetais, entretanto, este aminoácido é pouco utilizado na alimentação humana. O consumo de lisina abaixo da ingestão diária recomendada em humanos, que é de 38 mg/kg/dia (segundo dados do *Institute of Medicine*), está associado a baixos níveis de crescimento, fadiga, náusea, tontura, perda de apetite e distúrbios reprodutivos e existem também estudos apontando efeitos benéficos da lisina no controle de infecções virais, como a herpes (KAGAN, 1974) e no fortalecimento de todo o sistema imunológico (AZZARÁ et al., 1995).

A produção mundial de lisina foi estimada em cerca de 2,2 milhões de toneladas para 2019, movimentando cerca de US\$4,8 bilhões naquele ano e a previsão é de crescimento

anual de cerca de 5,7% até 2027, devendo o mercado chegar à produção de 3,4 milhões de toneladas até o final deste período (GRAND VIEW RESEARCH, 2021). Os principais produtores do aminoácido são as empresas Ajinomoto (Japão), ADM (EUA), CHEIL-JEDANG (Coréia do Sul), Global BioChem (China) bem como as empresas BASF e Evonik (Alemanha) (LEUCHTENBERGER, 2010).

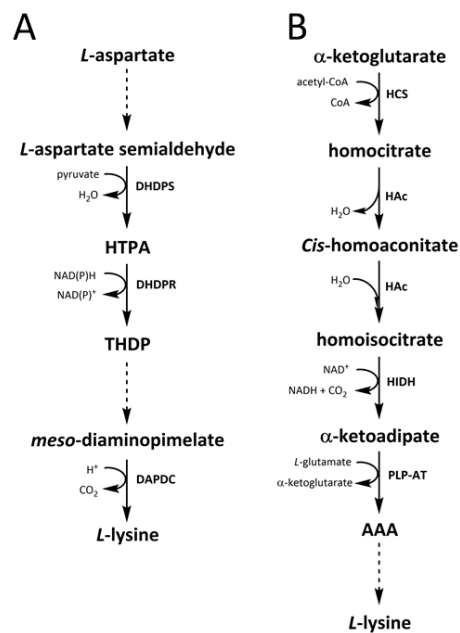
A lisina é um aminoácido polar e alifático, básico, apresentando carga positiva em seu radical em condições de pH fisiológico ( $\text{NH}_3$ ). A lisina é codificada pelos códons AAA e AAG, sua fórmula é  $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ , seu peso molecular é de 146,18 g/mol e sua estrutura molecular é ilustrada na Figura 6.



**Figura 6** – Estrutura molecular da lisina.

Fonte: Wikipedia.

Assim como a maioria dos demais aminoácidos, a estrutura da lisina é quiral e apenas o enantiômero levogiro é utilizado pelos seres vivos, de modo que, quando nos referimos à lisina, estamos falando da L-lisina (alguns processos produtivos geram uma mistura racêmica dos enantiômeros dextrogiro e levogiro, estes casos serão destacados conforme a ocasião). Como um aminoácido essencial, a lisina não é sintetizada pelos animais. Os organismos que sintetizam a lisina o fazem a partir do L-aspartato ou do alfa-cetoglutarato, através de duas vias metabólicas conhecidas como via do ácido diaminopimélico (DAP) e via do alfa-aminoadipato (AAA) respectivamente (Figura 7).



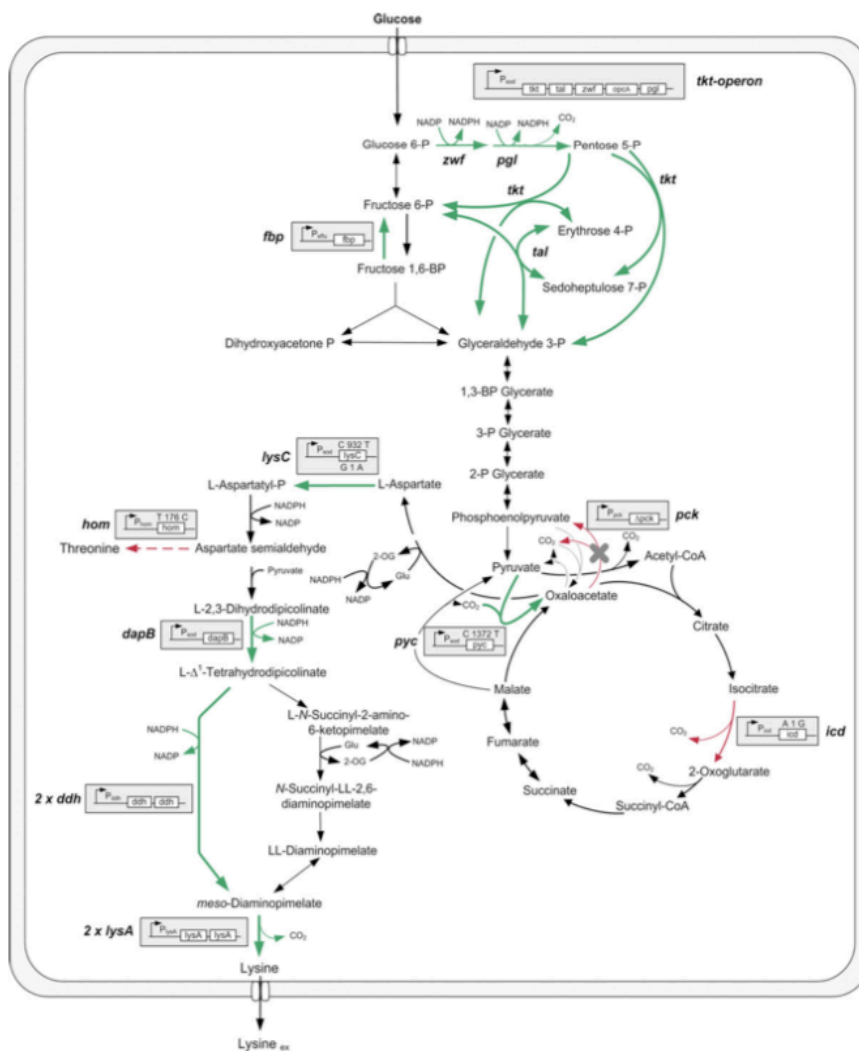
**Figura 7** – Vias metabólicas da produção de lisina

Fonte: Wikipedia (<https://en.wikipedia.org/wiki/Lysine>).

Observação: A- Via do DAP, B- Via do AAA

Ambos os processos metabólicos envolvidos na produção de lisina são fortemente regulados em diferentes etapas e a lisina por si só atua como um importante inibidor de sua síntese.

A bioprodução de lisina tem sido realizada por meio de linhagens da bactéria *Corynebacterium glutamicum* (MAHMOOD Z., 2014). Esta bactéria tem sido geneticamente modificada de maneira a reduzir os efeitos dos processos inibitórios e fortalecer as rotas que levam à produção da lisina. A Figura 8, retirada de Becker (2011) ilustra a rota metabólica de produção de lisina numa linhagem geneticamente modificada de *C. glutamicum*. As caixas em cinza representam modificações genéticas (feitas diretamente no DNA), com o símbolo “X” representando a deleção de genes, as setas verdes representando a amplificação de determinada rota e as setas vermelhas sua atenuação ou deleção.



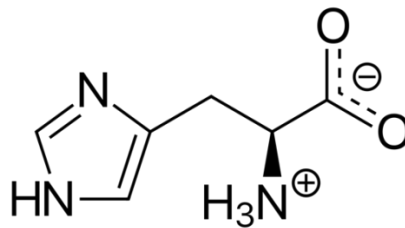
**Figura 8** – Produção de lisina em *C. bacterium* geneticamente modificada.

Fonte: Becker, 2011.

Através de estratégias de modificação genética como as destacadas na Figura 8 é possível obter organismos com grande capacidade de produção de lisina, chegando a concentrações de 170 g/L (MAHMOOD Z., 2014) e uma conversão de até 50 g de lisina para 100 g de sacarose (LEUCHTENBERGER, 2005).

### 2.3. Histidina

A histidina é um aminoácido essencial, isolado pela primeira vez em 1896 por Albrecht Kossel e Sven Gustaf Hedin. Sua fórmula é  $C_6H_9N_3O_2$  e é codificada pelos códons CAU e CAC. A histidina possui cadeia lateral de imidazol (composto orgânico de fórmula  $C_3H_4N_2$ ), sendo um aminoácido de carga positiva em pH fisiológico (Figura 9).



**Figura 9** – Estrutura molecular da histidina.

Fonte: Wikipedia.

A histidina é um precursor da histamina (convertido em histamina em reação catalisada pela enzima histidina descarboxilase), de forma que, além do seu papel proteínogênico, o aminoácido tem importante função no sistema imunológico e no controle de respostas inflamatórias. Dessa forma, a histamina está ligada também à ocorrência de reações alérgicas (SCHWENTNER et al., 2019), sendo que alguns medicamentos anti-histamínicos atuam justamente na inibição da conversão da histidina em histamina (reduzindo desta forma a resposta inflamatória). A histidina também é utilizada como suplemento em ração animal e possui além das propriedades anti-inflamatórias, atividade antioxidante, de forma que o aminoácido é usado como insumo em medicamentos (SCHWENTNER et al., 2019).

A histidina é sintetizada a partir do fosforibosil pirofosfato (PRPP), que por sua vez é produzido a partir da ribose-5-fostato na via das pentoses. A primeira reação dessa cadeia é catalisada pela enzima ATP-fosforibosil transferase e une PRPP e ATP, criando fosforibosil-ATP. Esse composto, por sua vez, passa por outras nove reações catalisadas por enzimas até ser convertido em histidina (SCHWENTNER et al., 2019). A Figura 10 ilustra esses processos metabólicos que levam do PRPP à histidina.

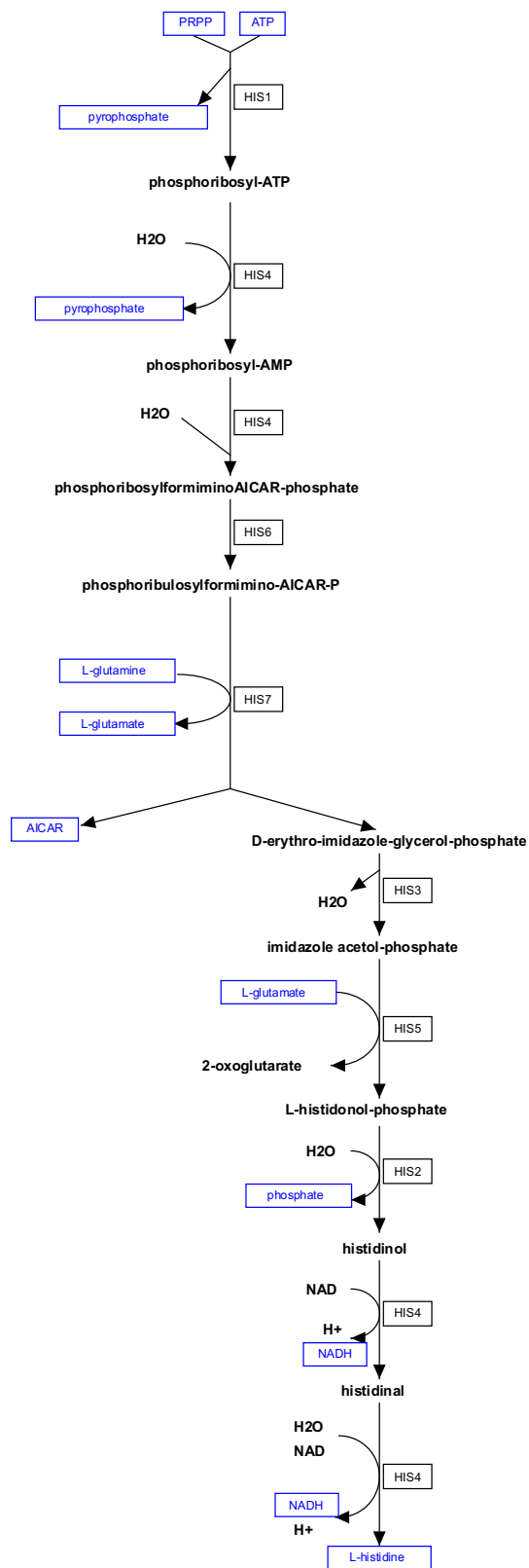


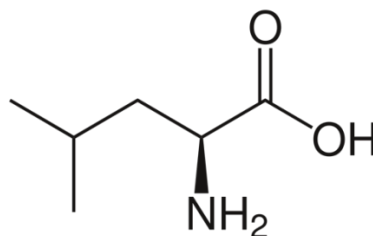
Figura 10 - Metabolismo da histidina em *S. cerevisiae*.

Fonte: Wikipedia

Como podemos observar na Figura 10, as reações anabólicas que levam à formação de histidina são muitas e envolvem compostos que fazem parte dos outros ciclos metabólicos importantes (como pirofosfato, outros aminoácidos e NADH). Em vista disso, a criação de linhagens de microrganismos superprodutoras de histidina é desafiadora, o que gera um pequeno número de organismos produtores descritos na literatura (SCHWENTNER et al., 2019). Dentre os organismos aptos para o desenvolvimento de linhagens superprodutoras de histidina, a *Corynebacterium glutamicum* se destaca, pois, possui uma rota intrínseca para produção do aminoácido sem possuir vias de utilização do mesmo (SCHWENTNER et al., 2019). As linhagens de maior produção de histidina descritas na literatura fazem a conversão de substrato em histidina a uma taxa de 0,15 - 0,2 g/g, o que representa pouco menos da metade do potencial teórico, de 0,44 g/g (SCHWENTNER et al., 2019). Estima-se que a produção global de histidina seja da ordem de 400 toneladas/ano (SCHWENTNER et al., 2019) e seu preço de venda da ordem de US\$ 30.000/tonelada, resultando em um mercado ainda pequeno, da ordem de US\$12 milhões.

#### 2.4. Leucina

A Leucina é um dos três aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs), juntamente com a valina e a isoleucina e um dos dois aminoácidos exclusivamente cetogênicos (podem ser convertidos em ácidos graxos ou corpos cetônicos), sendo o outro a lisina. Sua fórmula é  $C_6H_{13}NO_2$  (Figura 11) e ela é codificada pelos códons UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, e CUG.



**Figura 11** - Estrutura molecular da leucina.

Fonte: Wikipedia.

A leucina é um aminoácido importante na formação e manutenção da musculatura esquelética, considerado o aminoácido mais importante para o desenvolvimento muscular e utilizada como suplemento na alimentação animal e humana (SASO et al., 2013). A leucina

está envolvida no mecanismo de sinalização da rapamicina em mamíferos (mTOR), o que explica parte da sua importância no desenvolvimento muscular e também na regulação dos níveis de glicose, promovendo gluconeogênese (WU et al., 2011). O aminoácido também é utilizado como flavorizante e como ingrediente na indústria de cosméticos (ZHANG et al., 2020).

A síntese de leucina em microrganismos e plantas é feita a partir do 2-cetoisovalerato, que tem origem no metabolismo do piruvato e envolve quatro enzimas principais, tornando-a mais importante a acetohidroxiácido sintase (AHAS) (ZHANG et al., 2020)(Figura 12).

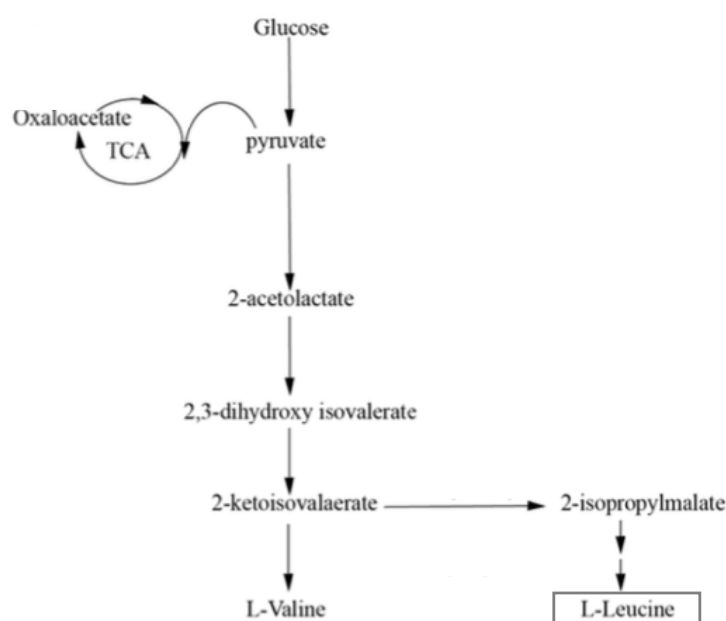


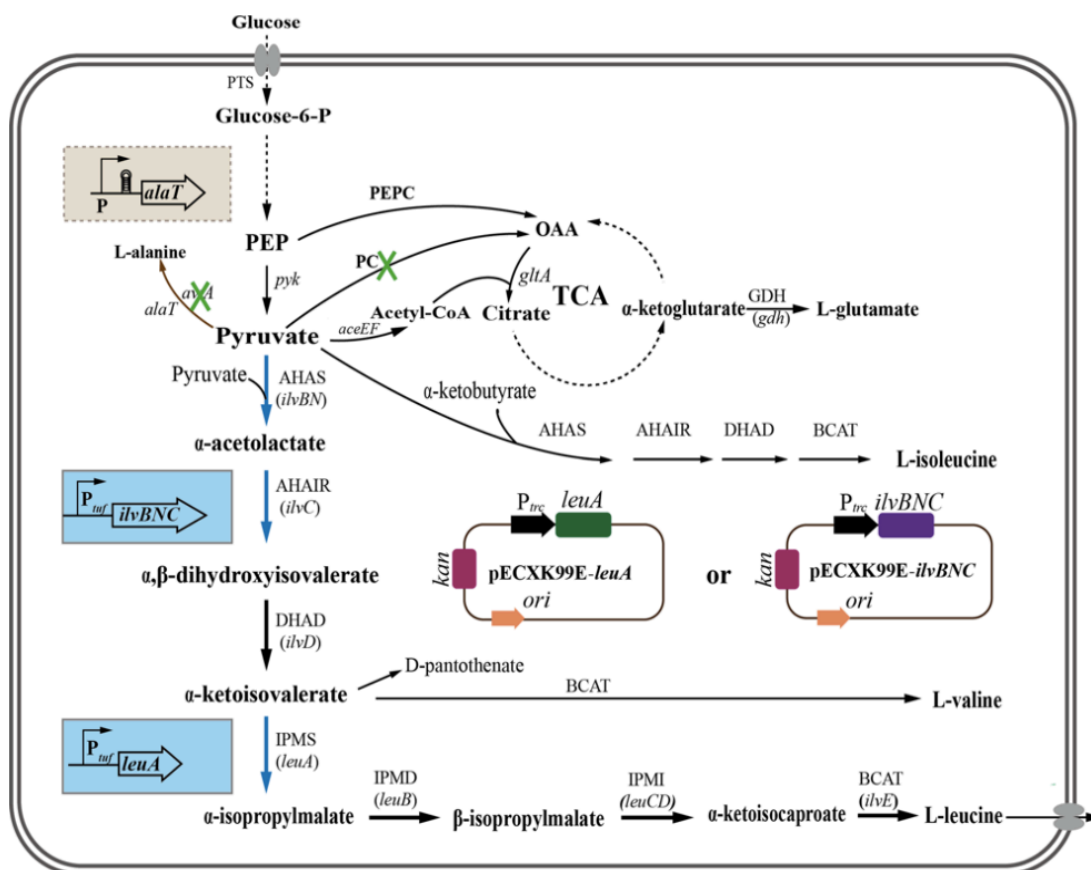
Figura 12 - Metabolismo da leucina em bactérias.

Fonte: Wikipedia.

Existem, naturalmente, diversas vias metabólicas que partem do piruvato, incluindo o Ciclo de Krebs e as vias que levam à síntese dos outros aminoácidos de cadeia ramificada, isoleucina e valina (que podemos ver como braço concorrente na Figura 12). Devido a esse fato, o desenvolvimento de linhagens dos microrganismos capazes de produzir leucina em escala industrial é complexo, envolvendo uma série de modificações genéticas que visam aumentar a disponibilidade de piruvato para produção de leucina, bem como minimizar efeitos de inibição por *feedback* nas enzimas envolvidas no metabolismo desse aminoácido; enfraquecer vias metabólicas concorrentes (como as que levam à produção de valina e isoleucina); otimizar aminotransferases para aumento da especificidade das enzimas e alterar



os balanços de reações de óxido-redução (ZHANG et al., 2020). O esquema mostrado na Figura 13, retirado de Zhang, ilustra as modificações feitas em linhagens de *Corynebacterium glutamicum*, por meio das quais os pesquisadores foram capazes de chegar a uma linhagem da bactéria capaz de produzir até 28,47 g/L de leucina, usando glicose como fonte de carbono.



**Figura 13** - Modificações em linhagem de *C. glutamicum* para produção de leucina.

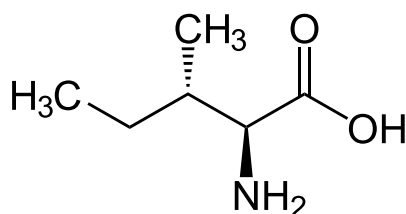
As caixas azuis representam genes que tiveram sua expressão aumentada por meio de alterações nos promotores no genoma. A caixa bege representa um gene cuja expressão foi diminuída por meio da inserção de um códon de parada (terminal) no genoma. Os símbolos “X” representam genes que foram deletados.

Fonte: Zhang et al., 2020.

O mercado global da Leucina é pequeno, tendo movimentado cerca de US\$9,5 milhões em 2019, o que corresponde a um volume de cerca de 1.000 toneladas e se projeta crescimento da ordem de 4,6% ao ano até 2027, chegando-se a um volume produzido da ordem de 1,46 toneladas naquele ano (GRAND VIEW RESEARCH, 2021).

## 2.5. Isoleucina

A isoleucina (ile) é um aminoácido essencial muito semelhante à leucina, sendo as duas moléculas isômeros, ou seja, ambas têm a mesma constituição molecular,  $C_6H_{13}NO_2$  (Figura 14), porém possuem estruturas moleculares diferentes. A isoleucina é também um aminoácido de cadeia ramificada (BCAA, Branched Chain Aminoacid), assim como a leucina e a valina e também é ao mesmo tempo, um aminoácido cetônico e glucogênico. Ela é codificada pelos códons AUU, AUC e AUA.



**Figura 14** - Estrutura molecular da Isoleucina.

Fonte: Wikipedia.

Assim como a leucina, a isoleucina possui um importante papel na formação e regeneração de tecidos musculares esqueléticos, sendo inclusive administrada para pacientes pós-cirúrgicos ou recuperando-se de lesões devido a seu papel na cicatrização destes tecidos, o aminoácido também pode ajudar no tratamento de lesões e enfermidades hepáticas (DAVIS, 2019)<sup>4</sup>. A isoleucina também atua na desintoxicação de compostos nitrogenados, é essencial para a formação da hemoglobina, possui papel na regulação dos níveis de açúcar sanguíneos (sendo um aminoácido glucogênico) e age na estimulação do sistema imunológico.<sup>5</sup> Dadas essas importantes funções metabólicas, a isoleucina é utilizada como aditivo na alimentação animal e também como princípio ativo em medicamentos para diversas enfermidades. Além disso, o papel da isoleucina na formação e regeneração da musculatura esquelética faz do aminoácido um importante componente de suplementos alimentares utilizados por atletas e halterofilistas, e o aminoácido também é utilizado como flavorizante em alimentação animal e humana. A produção global de isoleucina foi da ordem de 820 toneladas em 2019,

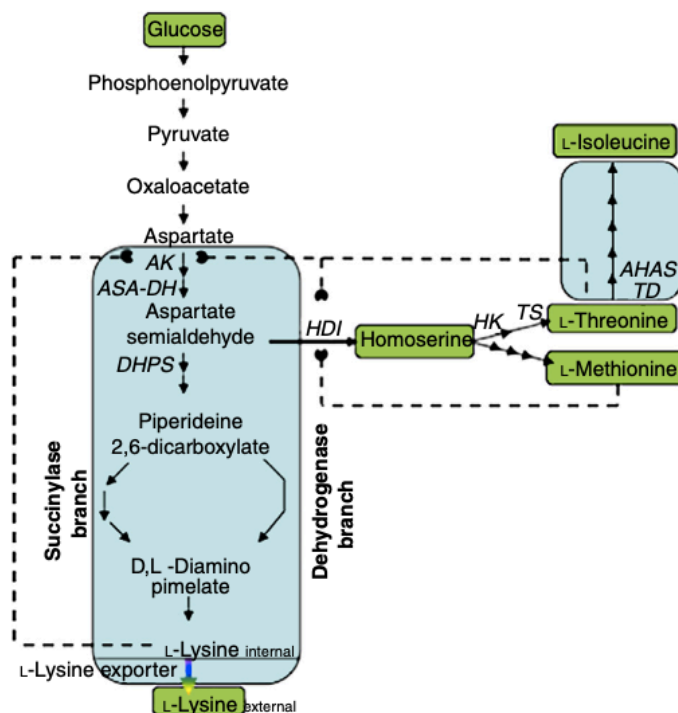
<sup>4</sup> JACK DAVIS. News Medical Life Sciences. **What are Leucine and Isoleucine?** 2019. Disponível em: <https://www.news-medical.net/life-sciences/What-are-Leucine-and-Isoleucine.aspx>. Acesso em: 02 maio 2022.

<sup>5</sup> PUB C HEM. National Library Of Medicine (ed.). **L-Isoleucine**. 2004/2022. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6306>. Acesso em: 05 maio 2022.

movimentando cerca de US\$ 14 milhões e deverá crescer cerca de 5,9% ao ano até 2027, chegando a movimentar cerca de 1.300 toneladas naquele ano (GRAND VIEW RESEARCH, 2021).

Assim como os outros aminoácidos de cadeia ramificada, a isoleucina é metabolizada em reação de transaminação reversa, catalisada por uma aminotransferase de cadeia ramificada, resultando, no caso da isoleucina em alpha-keto-beta-metilvalerato, que, por sua vez, sofre descarboxilação oxidativa, catalisada por uma desidrogenase de ácidos cetônicos, resultando finalmente em acetil CoA, propionil CoA, acetoacetato, e succinil CoA.<sup>6</sup>

Como supracitado, as vias anabólicas que levam à produção dos aminoácidos de cadeia ramificada são concorrentes, de forma que, como é possível observar na Figura 15, os três aminoácidos são sintetizados por meio de reações que se iniciam com o piruvato. A síntese de isoleucina possui etapas comuns às da metionina e lisina enquanto a treonina é um metabólito intermediário na produção de isoleucina.



**Figura 15** – Via metabólica que leva à produção de isoleucina em *C. glutamicum*.

AK – Aspartato quinases; ASA-DH aspartato-semialdeído desidrogenase; HDI – Homoserina desidrogenase; HK – Homoserina quinase; TS – Treonina sintetase; TD – Treonina desidratase; AHAS – Aceto-hidroxiácido sintetase.

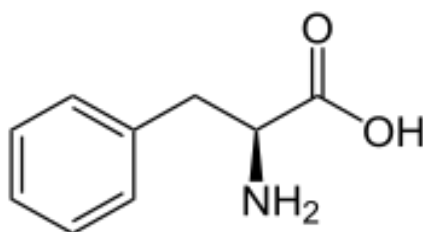
<sup>6</sup> PUB C HEM. National Library Of Medicine (ed.). **Metabolism/Metabolites**. 2004/2022. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6306#section=Metabolism-Metabolites>. Acesso em: 05 maio 2022.

Fonte: SANCHEZ S., 2014.

A produção industrial de isoleucina é possível tanto por extração de hidrólitos proteicos, quanto pela rota biotecnológica. Na rota biotecnológica, a produção de isoleucina é feita, geralmente, utilizando linhagens geneticamente modificadas de *Corynebacterium glutamicum* (SANCHEZ S., 2014). A síntese de isoleucina envolve um processo com onze etapas, sendo que dessas ao menos cinco tem sua expressão ou atividade reguladas, constituindo-se em importantes alvos para transformação genética no processo de construção de linhagens superprodutoras do aminoácido. Em *C. glutamicum*, as atividades das enzimas AK, HDI, TD e AHAS (como ilustradas na Figura 15) são controladas por regulação alostérica em mecanismos de *feedback* positivo, enquanto a enzima HK sofre inibição por processos competitivos. Por meio de modificações genéticas desenhadas para atuar nestes processos, e, partindo de linhagens previamente aprimoradas para produção de treonina, foi possível gerar linhagens de *C. glutamicum* capazes de produzir até 40 g/L de isoleucina (SANCHEZ S., 2014).

## 2.6. Fenilalanina

A fenilalanina é um aminoácido essencial de cadeia aromática, de fórmula  $C_9H_{11}NO_2$  (Figura 16), sendo codificado pelos códons UUU e UUC. É considerado um aminoácido apolar devido à natureza inerte e hidrofóbica de seu anel de benzeno. Assim como os demais aminoácidos essenciais, a fenilalanina não é sintetizada em mamíferos, produzido por bactérias, fungos e plantas.



**Figura 16** - Estrutura molecular da fenilalanina.

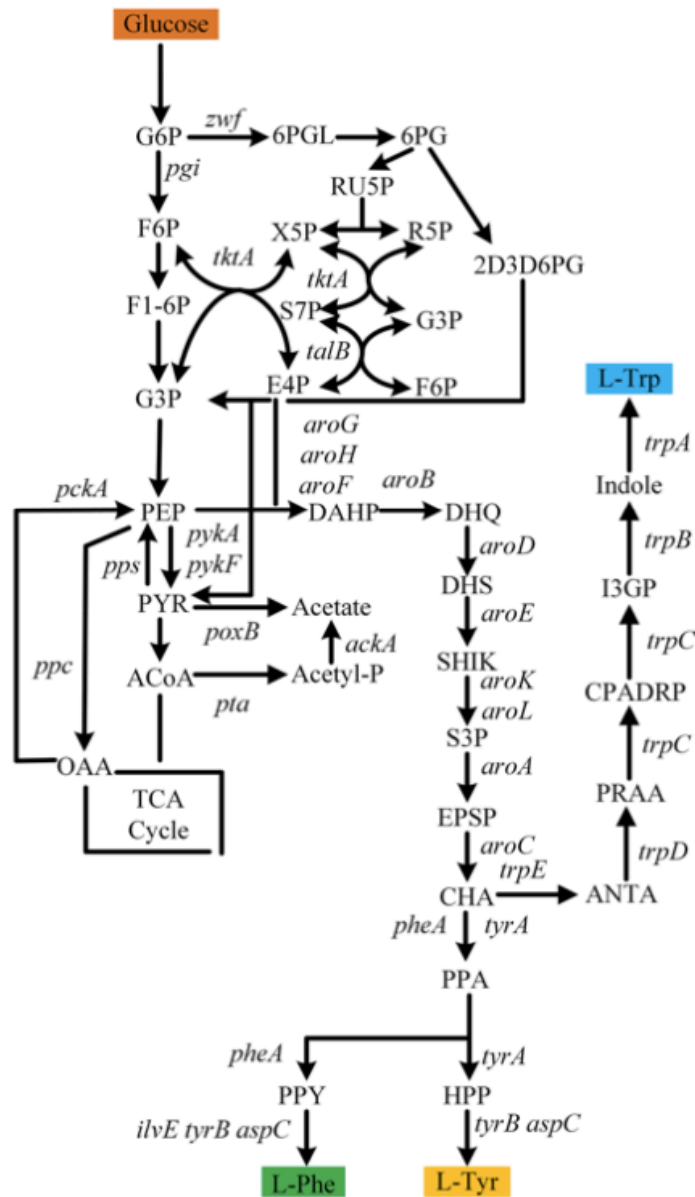
Fonte: Wikipedia.

A fenilalanina (em especial o seu enantiômero levogiro, L-fenilalanina) é utilizada na indústria química, farmacêutica e alimentícia, o seu principal uso é na fabricação do adoçante

aspartame, molécula cerca de 200 vezes mais doce que o açúcar e sem as implicações negativas de saúde que o açúcar representa para os diabéticos. A fenilalanina também é um precursor de compostos neurológicos importantes como a dopamina, noradrenalina e adrenalina, assim como do pigmento melanina. Devido a estas características, a fenilalanina também é utilizada na suplementação humana e como ingrediente em medicamentos para dor de cabeça, depressão e outras enfermidades. O mercado global consumiu cerca de 31.000 toneladas de fenilalanina em 2019, o que representou US\$ 281 milhões e é esperado crescimento da ordem de 5,6% ao ano até 2027, chegando a movimentar cerca de 48.800 toneladas naquele ano (GRAND VIEW RESEARCH, 2021).

Assim como outros aminoácidos aromáticos (tirosina e triptofano), a fenilalanina foi tradicionalmente produzida a partir do benzeno, tolueno e xileno na indústria do petróleo (LEE et al., 2019). Mais recentemente, a produção tem sido realizada por biotecnologia, utilizando microrganismos (em especial *E. coli*) geneticamente modificados para obtenção de linhagens superprodutoras do aminoácido. A produção pela rota biotecnológica tem se mostrado interessante devido a seu baixo custo, aspecto renovável dos substratos e menor impacto ambiental (GU et al., 2019).

A produção dos aminoácidos aromáticos em bactérias é feita através da via do xiquimato, uma rota metabólica com sete etapas, que se inicia pela reação do fosfoenolpiruvato com a eritrose-4-fosfato e vai até o corismato, que é um substrato para os três aminoácidos aromáticos. A Figura 17 ilustra a rota metabólica que leva à produção dos três aminoácidos aromáticos em *E. coli*.



**Figura 17** - Via metabólica da fenilalanina e outros aminoácidos aromáticos.

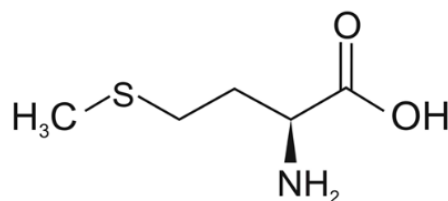
Fonte: Gu (et al., 2019).

Como se pode observar na via metabólica da Figura 17, a produção da fenilalanina parte do fosfoenolpiruvato (PEP) e da eritrose-4-fosfato (E4P). A partir desses precursores, a rota metabólica passa por diversos intermediários, com síntese mediada por enzimas específicas e ela rota também pode levar à formação de triptofano e de tirosina. Dessa forma, a criação de linhagens superprodutoras de fenilalanina demanda o uso concomitante de diferentes estratégias, tais como a supressão de rotas concorrentes, de modo a aumentar a

disponibilidade dos precursores (PEP e E4P); controle/diminuição dos efeitos de repressão e inibição por *feedback* das enzimas, dos precursores e da própria fenilalanina; mitigação das vias concorrentes que levam à produção dos outros dois aminoácidos e aumento da taxa de exportação do aminoácido pela bactéria (GU et al., 2019). Por meio dessas estratégias, foi possível chegar a linhagens de *E. coli* capazes de produzir até 72,9 g/L de fenilalanina a partir de glicose (ZHANG et al., 2018).

## 2.7. Metionina

A metionina é um aminoácido essencial apolar e alifático, que é o único aminoácido essencial que contém enxofre. Ela é codificada pelo códon AUG e sua fórmula molecular é  $C_5H_{11}NO_2S$ . A Figura 18 ilustra a estrutura molecular da metionina.



**Figura 18** - Estrutura molecular da metionina.

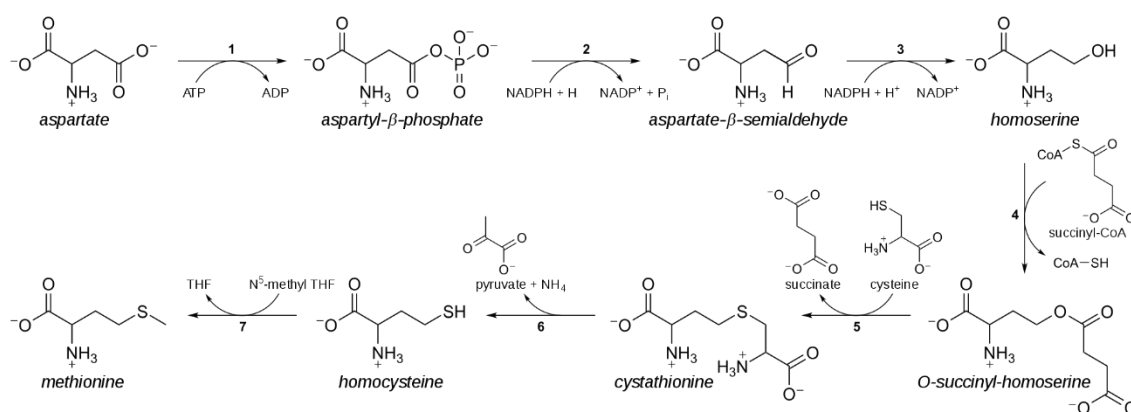
Fonte: Wikipedia.

A metionina é um aminoácido proteínogênico, nos eucariotos, o códon AUG é também o códon de início da tradução gênica, de forma que a metionina é o primeiro aminoácido a ser inserido nas cadeias proteicas (embora o aminoácido possa ser retirado da proteína posteriormente, em modificações pós-tradução). Além deste papel como primeiro aminoácido das cadeias polipeptídicas, a metionina é também o precursor de todos os demais aminoácidos que contém enxofre e seus derivados, e é a molécula doadora de grupos metis de maior importância nos organismos eucariotos, doando, por exemplo, os grupos metis para os intermediários de DNA e RNA (JANKOWSKI et al., 2014) e também para moléculas importantes como a adrenalina, creatina, melatonina, carnitina e muitas outras, além de ser a molécula precursora de poliaminas essenciais (KOHLMEIER M., 2003).

Do ponto de vista de mercado, a maior utilização da metionina é como aditivo em rações animais, em especial na alimentação de aves e porcos, animais para os quais a

metionina é o primeiro e terceiro aminoácido limitante, respectivamente (JANKOWSKI et al., 2014). O alimento com maior teor de metionina é justamente a albumina, em especial a albumina presente em ovos, o que explica em parte a grande demanda de metionina por frangos e outras aves (WILLKE T., 2014). O mercado global de metionina movimentou cerca de 423 mil toneladas do aminoácido em 2019, o que correspondeu a uma receita da ordem de US\$ 3,9 bilhões e a expectativa é de crescimento da demanda em cerca de 6,5% ao ano até 2027, devendo chegar a uma produção global de 681 mil toneladas naquele ano (GRAND VIEW RESEARCH, 2021).

O metabolismo da metionina em bactérias, assim como o de outros aminoácidos essenciais começa no aspartato, passando pela homoserina e homocisteína, como ilustra a Figura 19.



**Figura 19** - Metabolismo da metionina em bactérias.

Fonte: Wikipedia.

Como se pode observar na Figura 19, o metabolismo da metionina é complexo, porque é altamente ramificado, com etapas divergentes e convergentes e mecanismos de regulação e inibição por *feedback* a cada etapa (LI et al., 2017). Devido a essa complexidade, a maior parte da produção global de metionina é feita por via química, partindo do metil mercaptano, acroleína e cianeto de hidrogênio (GOMES & KUMAR 2005; LI et al., 2017). A empresa alemã Evonik é a principal produtora mundial de metionina pela rota química, processo que vem conduzindo desde a década de 1960 (WILLKE T., 2014) e em 2016 a empresa adquiriu tecnologia para bioprodução do aminoácido da empresa METEX<sup>7</sup>. Como mencionado

<sup>7</sup> EVONIK - LANGUAGE BEYOND CHEMISTRY (Germany) (ed.). **Evonik to acquire technology from METEX for the fermentative production of methionine.** 2016. Disponível em:



anteriormente, a produção por rota química traz alguns problemas, como a produção de misturas racêmicas (dextrogiro e levogiro) do aminoácido, que geralmente precisam ser separadas antes de comporem o produto final, além do impacto ambiental negativo, ligado tanto à extração dos precursores quanto à formação de resíduos nocivos em diferentes etapas do processo produtivo. Assim sendo, a comunidade científica e empresarial tem buscado formas de estabelecer processos industriais para produção de metionina por rota biotecnológica, a partir do desenvolvimento de linhagens de microrganismos (em especial *E. coli* e *C. glutamicum*) superprodutoras do aminoácido. A empresa coreana CJ Bio inaugurou em 2015 a primeira planta para bioprodução de metionina do mundo, na Malásia, e é atualmente uma das principais fornecedoras do aminoácido.

Assim como em outros aminoácidos cuja rota metabólica é ramificada e possui várias moléculas intermediárias que participam de metabolismos concorrentes, o fluxo metabólico da metionina é controlado por diversos mecanismos de regulação e *feedback* e possui gargalos em diferentes etapas. Desta forma, um dos principais desafios para o desenvolvimento de linhagens superprodutoras de metionina é conseguir balancear o fluxo metabólico em cada um dos ramos que levam à produção das moléculas intermediárias do processo, uma vez que cada ramo possui sistemas regulatórios independentes e que o fluxo de cada um atua como um gargalo e/ou como um inibidor das etapas subsequentes (ZHENG et al., 2018). Nesse estudo de Zheng (et al., 2018) os pesquisadores partem de uma lista de oitenta genes com possível influência no metabolismo da metionina, identificando oito alvos com grande impacto nos mecanismos de regulação e em última análise no fluxo produtivo de metionina em *E. coli*. A partir deste conhecimento e utilizando técnicas de modificação genética como CRISPR, os autores construíram uma linhagem de *E. coli* capaz de produzir 16,86 g/L de metionina em um processo de batelada alimentada (ZHENG et al., 2018).

## 2.8. Treonina

A treonina é um aminoácido essencial de fórmula  $C_4H_9NO_3$  com efeitos importantes no metabolismo humano e de animais. A treonina foi um dos últimos aminoácidos a serem descobertos, em 1936. Trata-se de um aminoácido polar e sem carga elétrica. A molécula é codificada pelos códons AC (ACA, ACC, ACG ou ACT) e pode se apresentar em quatro isômeros distintos (2S,3R), (2R,3S), (2S,3S) e (2R,3R), entretanto apenas a configuração (2S,3R) corresponde à molécula conhecida como L-Treonina, metabolizada pelos seres vivos. A Figura 20 ilustra a configuração da molécula de L-treonina.

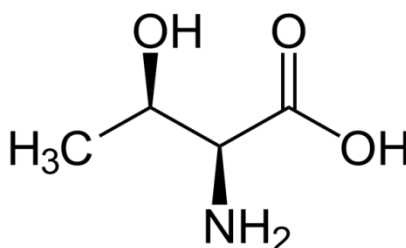


Figura 20 - Molécula de L-treonina.

Fonte: Wikipedia.

Esse aminoácido está associado à produção de componentes de tecidos conjuntivos como a elastina e o colágeno e tem impacto direto na manutenção da mucosa intestinal, já que possui efeitos na produção de muco, permeabilidade trans epitelial e na atividade de enzimas intestinais (LI et al., 2011). Estudos indicam que o aminoácido também possui funções no sistema nervoso, de forma que ele tem sido utilizado no tratamento de diversas disfunções neurológicas, tais como espasmos, alguns tipos de esclerose, ansiedade e casos leves de depressão.<sup>8</sup> Essas funções da treonina são importantes não apenas no metabolismo humano, mas também no de diversos animais, de forma que a treonina atua como um aminoácido limitante na criação de porcos e aves, considerado o 2º e 3º aminoácido limitante para o crescimento desses animais (LI et al., 2011).<sup>9</sup>

Devido ao seu papel no metabolismo humano, a treonina é utilizada como componente em fármacos no tratamento de doenças neurológicas e intestinais, além de ser utilizado como aditivo em rações animais para porcos e aves. O seu uso como aditivo contribui para o

<sup>8</sup> PUB C HEM. National Library Of Medicine (ed.). **L-Threonine**. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/l-Threonine>. Acesso em: 25 maio 2022.

<sup>9</sup> <https://www.bioscience.org/2011/v3e/af/322/fulltext.htm>

crescimento dos animais, complementando dietas pobres em proteína e diminuindo a emissão de nitrogênio (WANG X, e QUINN P., 2012). O mercado global de treonina movimentou cerca de 1 milhão de toneladas em 2019, o que correspondeu a movimentação financeira de cerca de US\$1 bilhão e a expectativa é de crescimento anual de 6,1% até 2027, devendo chegar ao volume de cerca de 2,2 milhões de toneladas naquele ano (GRAND VIEW RESEARCH, 2021). O mercado é bastante concentrado, com 4 empresas responsáveis por 74% da produção global.<sup>10</sup>

A treonina é sintetizada por plantas e microrganismos a partir do aspartato, isto é, formado a partir do oxaloacetato, de forma que o metabolismo da treonina está intimamente ligado a glicólise e em especial ao Ciclo de Krebs (DONG X. et al., 2012). Existem cinco enzimas envolvidas no metabolismo da treonina a partir do aspartato, sendo três delas: o aspartato kinase, homoserina desidrogenase e a homoserina kinase consideradas críticas para o processo (DONG X. et al., 2012). Há também metabólitos concorrentes no processo de produção da treonina, em especial a lisina e a metionina, assim como a isoleucina e a glicina, que podem ser metabolizadas a partir da treonina, diminuindo sua concentração. A Figura 21 ilustra o metabolismo da treonina, desde o início do processo da glicólise.

---

<sup>10</sup> DATA INTELO. Data Intelo (ed.). **Global L-Threonine Market Report Segments**. 2021. Disponível em: <https://dataintel.com/report/l-threonine-market/>. Acesso em: 05 maio 2022.

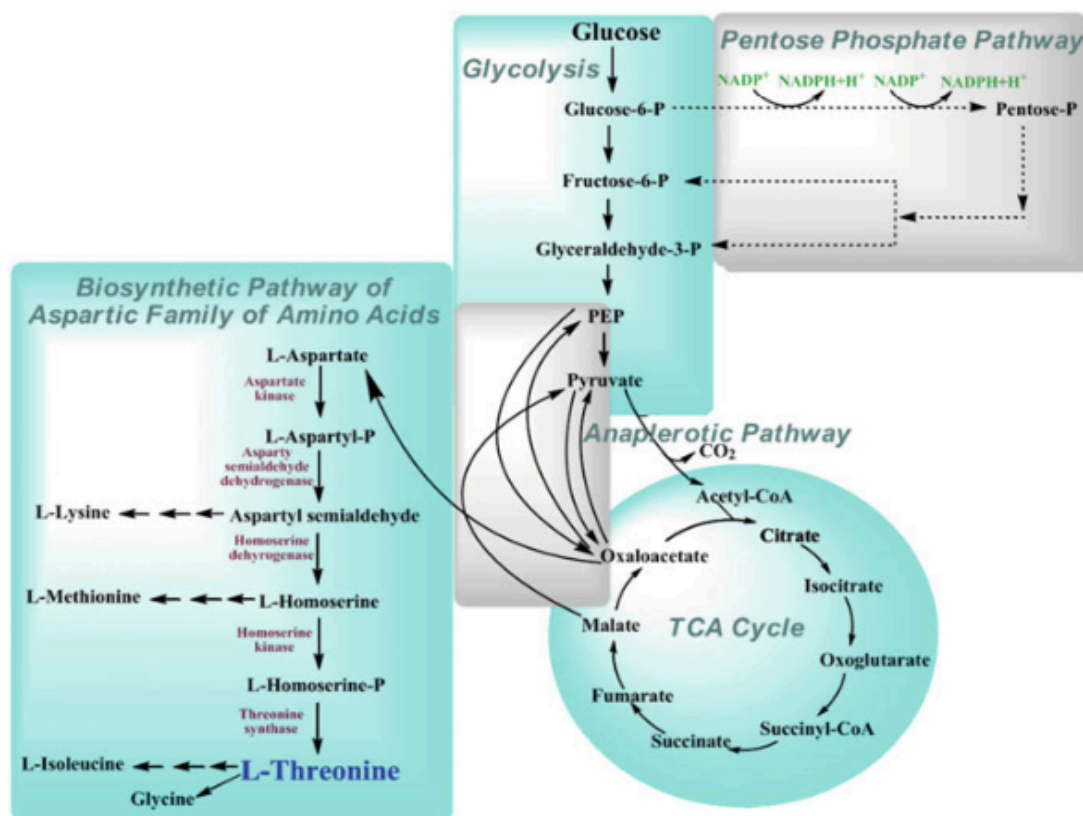


Figura 21 - Metabolismo da Treonina

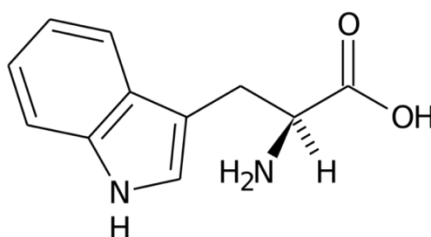
Fonte: DONG X. et al., 2012.

Embora, assim como para outros aminoácidos, a treonina possa ser produzida por extração, rota química ou por rota biotecnológica, a produção pela rota biotecnológica é a mais utilizada (DONG X. et al., 2012). Com o objetivo de obter maior eficiência na produção de treonina, linhagens de diferentes microrganismos que foram geneticamente modificadas, em especial linhagens de *E. coli* e *C. glutamicum*. São cinco as principais estratégias de modificação genética utilizadas com esse objetivo: 1) super expressão dos genes que codificam a produção das enzimas envolvidas no metabolismo da treonina; 2) atenuação dos caminhos que levam à produção dos produtos concorrentes como metionina e lisina; 3) redução da conversão da treonina em isoleucina e glicina; 4) aumento da secreção da treonina para o meio extra celular (secreção que é realizada sobretudo por transporte ativo) e; 5) combinação das estratégias supracitadas por meio da engenharia metabólica de sistemas (DONG X. et al., 2012). Por meio dessas estratégias, foram criadas linhagens de *E. coli* cuja produção de treonina se aproxima do potencial máximo teórico (DONG X. et al., 2012). A combinação dessas linhagens com estratégias de alimentação específicas (alimentação pseudo exponencial, com controle rígido dos níveis de glicose fornecidos) gerou linhagens capazes de

produzir até 124 g/L de treonina a partir da glicose (WANG J. et al., 2013). Também já foram desenvolvidos processos industriais estáveis capazes de produzir 100 g/L de treonina a partir de xarope de milho (material mais barato que a glicose e, portanto, mais apropriado para processos industriais), uma vez que os níveis de ferro e outras características de qualidade disponíveis no substrato são corrigidas e controladas (OKAMOTO K. e IKEDA M., 1999).

## 2.9. Triptofano

Como todo aminoácido, a molécula do triptofano possui um grupo amino e um grupo carboxílico, tendo ainda um indol (cadeia aromática heterocíclica) em sua cadeia lateral, como podemos ver na Figura 22.

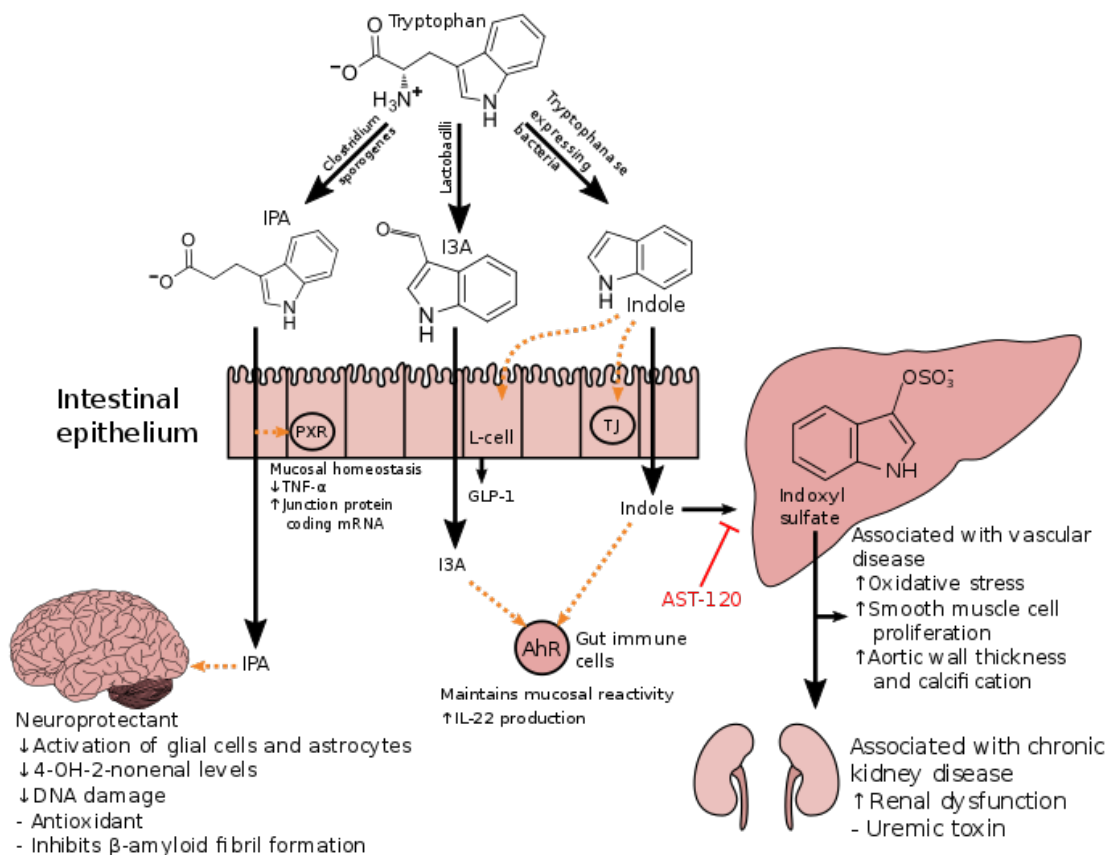


**Figura 22** - Estrutura molecular do triptofano.

Fonte: Wikipedia.

Esse aminoácido aromático essencial tem funções associadas à síntese de hormônios neurológicos, em especial a serotonina e a melatonina (hormônio relacionado ao sono). Devido a essas características, o triptofano (e seu produto direto, o 5-hidroxitriptofano ou 5-HTP) é utilizado em tratamentos de distúrbios neurológicos, em especial a depressão (o triptofano é convertido em 5-hidroxitriptofano, que é convertido em serotonina), sendo comercializado para este fim, tanto em sua forma pura, quanto como composto ativo em medicamentos mais complexos (MAHMOOD, Z., 2014). Ao ser degradado, o triptofano também libera alguns componentes que auxiliam na proteção do tecido neurológico, enquanto outros componentes, em excesso, podem ocasionar disfunções renais. A

A Figura 23 ilustra alguns dos destinos do triptofano em seres humanos e outros mamíferos, a partir de etapas realizadas por bactérias que habitam o trato intestinal.

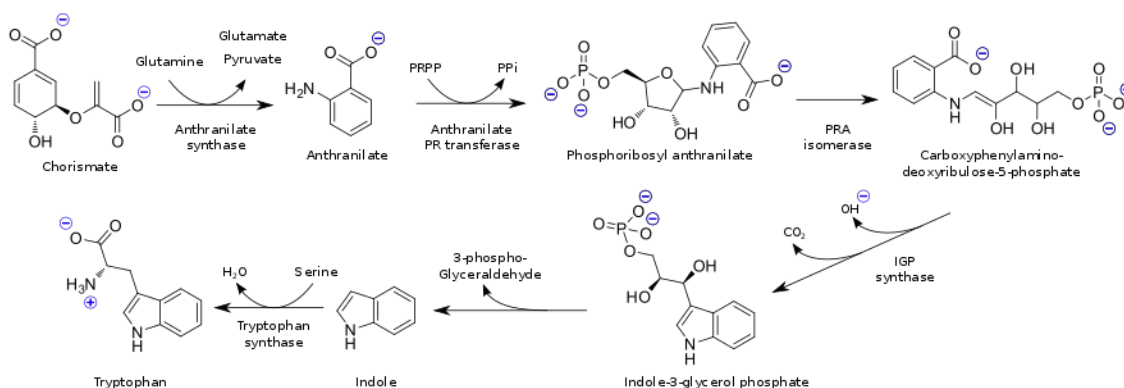


**Figura 23** – Destino e funções do triptofano em mamíferos.

Fonte: Wikipedia.

Além desse uso na indústria farmacêutica, o triptofano é bastante utilizado como suplemento em ração animal (YOKOTA A. e IKEDA M., 2017), sendo o quarto aminoácido limitante na criação de porcos. Este uso na criação de porcos representa o maior mercado do triptofano. A produção global de triptofano foi da ordem de 16 mil toneladas em 2019, movimentando US\$229 milhões, com forte projeção de crescimento nos próximos anos, estimada em 18,1% ao ano até 2027, ano em que o mercado deve chegar a cerca de 60 mil toneladas anuais (GRAND VIEW RESEARCH, 2021).

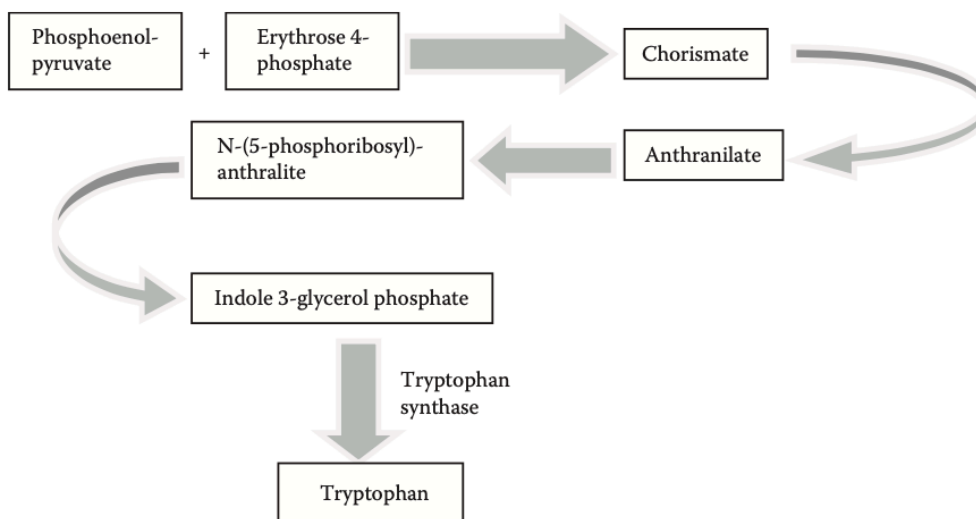
Sendo um aminoácido essencial para os seres humanos, mamíferos e aves de forma geral, o triptofano deve ser ingerido na alimentação. Bactérias, fungos e plantas são capazes de sintetizar o triptofano a partir do chiquimato, ou do ácido antranílico (ou de seu precursor, o corismato). A Figura 24 ilustra o processo de síntese do triptofano em bactérias, a partir do corismato.



**Figura 24** - Síntese do triptofano a partir do corismato.

Fonte: Wikipedia.

Em um primeiro momento, a síntese do triptofano em escala industrial foi feita por métodos químicos, a partir do ácido antranílico. A esse método foi difundido a partir de 1980, a síntese em reações mediadas por enzimas e por via biotecnológica (MAHMOOD Z., 2014). Atualmente, a síntese em escala industrial do triptofano é feita sobretudo por rotas biotecnológicas, utilizando cepas de *C. glutamicum* e *E.coli* modificadas para a superprodução do aminoácido (MAHMOOD Z., 2014). A Figura 25 ilustra a rota metabólica que culmina na produção do triptofano em *E.coli*.



**Figura 25** - Rota metabólica do triptofano em *E. Coli*.

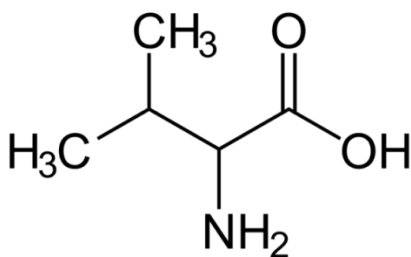
Fonte: Mahmood Z., 2014.

Através da modificação genética de cepas de *E.coli* e *C. glutamicum*, com a inativação de vias metabólicas concorrentes, o aumento da concentração intracelular de precursores e a super expressão de etapas geralmente limitadas pela disponibilidade enzimática, foi possível

desenvolver bactérias capazes de produzir até 48,68 g/L de triptofano com taxa de conversão de glicose em 21,87% (WANG J. et al., 2013).

## 2.10. Valina

A Valina é um aminoácido essencial hidrofóbico de cadeia ramificada e com fórmula  $C_5H_{11}NO_2$  (Figura 26). A valina é produzida por plantas e microrganismos a partir do piruvato e é codificada pelos códons GU (GUA, GUC, GUU e GUG). Embora a presença da valina em altas concentrações esteja associada a problemas no metabolismo de insulina, o aminoácido possui importantes papéis na cicatrização de tecidos, remoção de compostos nitrogenados tóxicos, estímulo do sistema imunológico e manutenção da massa muscular, de modo que a molécula é utilizada em suplementos alimentares tanto para humanos quanto para animais, além de ser utilizada como precursora em alguns fármacos (notoriamente antibióticos) e em herbicidas (WANG X., ZHANG H. e QUINN P., 2018). O mercado global de valina é relativamente pequeno, com produção de cerca de 1.600 toneladas em 2019, movimentando US\$27,5 milhões naquele ano e com projeção de crescimento da ordem de 5,1% ao ano até 2027, ano em que a produção deverá chegar a cerca de 2.400 mil toneladas (GRAND VIEW RESEARCH, 2021).



**Figura 26** - Molécula da valina.

Fonte: Wikipedia.

A produção de valina em escala industrial começou por métodos químicos de extração, porém a maior parte da produção atual se dá pela via biotecnológica, utilizando linhagens geneticamente modificadas das bactérias *E. Coli* e, em especial, *C. glutamicum* (WANG X., ZHANG H. e QUINN P., 2018). A síntese da valina nesses microrganismos parte do piruvato e envolve quatro enzimas principais: acetohidroxiácido sintase (AHAS), acetohidroxiácido isômero-redutase (AHAIR), dihidroxiácido desidratase (DHAD) e transaminase (TA) (WANG X., ZHANG H. e QUINN P., 2018) (Figura 27).



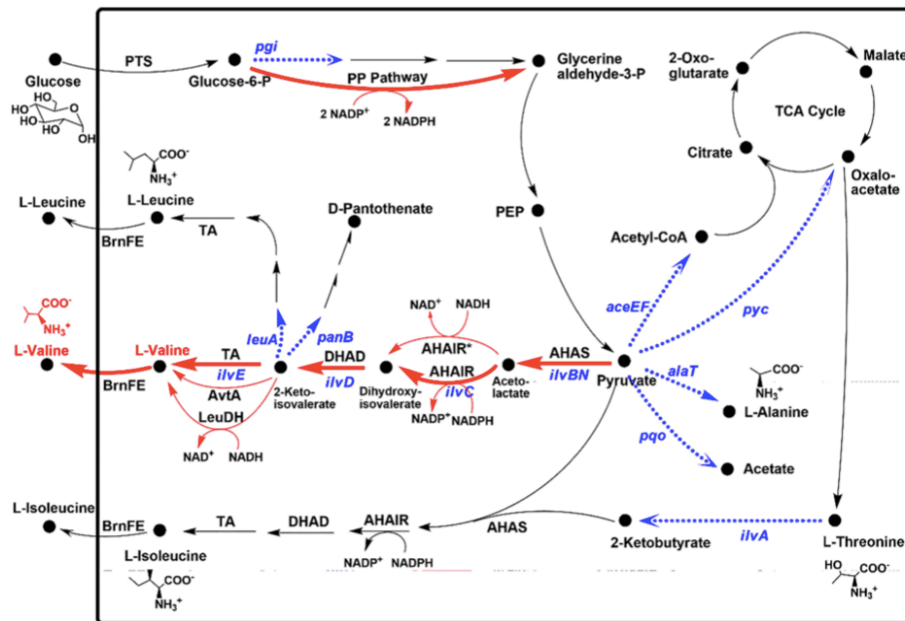


Figura 27 - Metabolismo da valina e estratégias para aumento de sua produção.

As setas em vermelho representam aumento do fluxo por meio da super expressão direta dos genes ligados às enzimas em questão. As setas em azul representam reações concorrentes ao metabolismo da valina e que podem ser mitigadas por meio da deleção dos genes correspondentes.

Fonte: Wang X., Zhang H. e Quinn P., 2018.

Como se pode observar na Figura 27, a via metabólica que leva à produção da valina em *C. glutamicum* também pode levar à produção de outros aminoácidos, tais como a leucina e isoleucina. Além disso, o piruvato também pode ser convertido em Acetil-CoA, ou a oxaloacetato. Para obtenção de linhagens super produtoras de valina é necessário realizar modificações genéticas que visem não apenas aumentar a produção da valina em si (ou sua exportação, feita sobretudo por transporte ativo), mas também diminuir a atividade das demais vias metabólicas que partem do piruvato, aumentando assim a disponibilidade desse para a produção de valina. Assim como outros aminoácidos de cadeia ramificada, a produção de valina também é regulada por mecanismos de *feedback* negativo na célula, que também precisam ser controlados para maximizar a produção de valina (WANG X., ZHANG H. e QUINN P., 2018).

Através de estratégias combinadas de modificação genética de linhagens de *C. glutamicum* envolvendo super expressão de genes que codificam as enzimas supracitadas, atenuação do mecanismo de *feedback* negativo, supressão das vias que levam a produtos

concorrentes e controle da quantidade relativa de coenzimas envolvidas no processo (diminuição da razão NADH/NAD<sup>+</sup>), foi possível chegar a uma produção de 1.470 mM de valina, correspondendo a uma produção de 172 g/L (YUKAWA H. et al. 2013).

### **3. OBJETIVO DO ESTUDO**

O trabalho tem por objeto analisar a viabilidade técnica, econômica e financeira para a produção de aminoácidos essenciais em escala industrial no Brasil, por rota biotecnológica, a partir da sacarose de cana-de-açúcar.

#### **3.1. Objetivos Específicos**

- i) Estudar de forma superficial os nove aminoácidos essenciais: Fenilalanina, Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Treonina, Triptofano e Valina;
- ii) Selecionar dois dos aminoácidos de maior potencial para as simulações de seus processos produtivos e análises econômico-financeira, com enfoque no produtor de açúcar e etanol brasileiro (usineiro) visando avaliar a possibilidade de adição de um novo produto ao portfólio atualmente disponível ao produtor, em especial ao produtor de médio porte (considerado neste estudo como o produtor que auferir receita agrícola anual superior a R\$1 milhão e inferior a R\$3 milhões).
- iii) Prover suporte a decisões de investimento na produção de aminoácidos no Brasil, seja por parte de produtores rurais, ou de outras entidades com interesse econômico, tais como investidores, financiadores ou entes públicos.

### **4. METODOLOGIA**

A metodologia contemplou quatro etapas principais:

#### **4.1. Análise da literatura e pesquisa de mercado**

Foram analisadas a literatura e as informações de mercado disponíveis sobre os nove aminoácidos essenciais, buscando entender e mapear o potencial de cada um em termos da viabilidade e eficiência da rota de produção biotecnológica e do potencial de mercado deles. Neste processo, foram considerados aspectos como a caracterização química,

principais organismos utilizados na para produção pela rota biotecnológica, suas vias metabólicas e as estratégias de produção de maior rendimento encontradas na literatura (incluindo as principais modificações genéticas que levam à superprodução de cada aminoácido). Também foram estimados os preços e volumes de produção do mercado global (e quando possível, também do mercado brasileiro) de cada aminoácido e elencados seus principais produtores, chegando a uma estimativa do potencial de mercado e a uma visão não aprofundada sobre a estrutura e competitividade da indústria de cada um dos nove aminoácidos essenciais.

#### 4.2. Seleção dos aminoácidos essenciais

Foram selecionados dois aminoácidos de maior potencial (a Metionina e o Triptofano) para aprofundamento, simulação do processo produtivo e elaboração da análise de viabilidade econômico-financeira. Estes aminoácidos foram selecionados dentre os nove aminoácidos essenciais segundo os seguintes critérios:

- i) **Disponibilidade e eficiência da rota biotecnológica:** Avaliada segundo a escala TRL (Technology Readiness Level), sistema desenvolvido pela NASA nos anos 70 e amplamente utilizado a partir dos anos 2000 para avaliar o estágio de desenvolvimento de tecnologias em diferentes ramos, como mostra a Figura 28. A definição do TRL referente à tecnologia para bioprodução de cada aminoácido foi feita verificando sua efetiva utilização por empresas no mercado e, quando esta ainda não está presente ou foi encontrada, avaliando a quantidade e qualidade de artigos disponíveis sobre esta produção, bem como a descrição sobre a eficiência e complexidade das modificações genéticas dos microrganismos envolvidos e especificidades do processo produtivo necessárias à produção.



Figura 28 - Estágios da escala TRL - Technology Readiness Level

Fonte: <https://biotechtown.com/blog/trl/>

- ii) **Preço de venda no mercado internacional (US\$/ton):** Estimado com base em dados disponíveis sobre o mercado e em conversas com especialistas do setor. Foram tidos como mais vantajosos para produção local os aminoácidos de maior preço de venda, pois se considera que as moléculas de maior preço permitirão uma produção economicamente viável em menor escala, o que diminuirá a necessidade de investimento para montagem de uma planta produtiva (permitindo assim a produção do aminoácido por produtores rurais de menor porte).
- iii) **Tamanho do mercado (toneladas/ano e US\$/ano):** Estimado com base em dados disponíveis sobre o mercado e em conversas com especialistas do setor. Sempre que possível foram estimados tanto o tamanho do mercado global quanto do mercado nacional.

- iv) **Expectativa de crescimento do mercado (CAGR):** Avaliação da taxa de crescimento anual (CAGR – Constant Annual Growth Rate) do volume de produção de cada aminoácido em toneladas por ano no período entre os anos de 2020 e 2027.
  
- v) **Produção nacional (Sim/Não):** Para cada aminoácido foi apurada a disponibilidade de fornecedores já estabelecidos em território nacional. Foram considerados como mais interessantes os aminoácidos que não contam com produtores nacionais, porque neste caso, o estabelecimento de uma indústria local representaria um ganho de produtividade para o país, bem como um cenário competitivo mais vantajoso para os novos produtores, permitindo maiores margens e certa proteção aos compradores nacionais quanto a variações cambiais.
  
- vi) **Desenho do processo produtivo:** Foram desenhados os processos produtivos para os dois aminoácidos selecionados, utilizando para tal o *software SuperPro Designer*® e como premissas os dados sobre produtividade encontrados no estado da arte da literatura de cada aminoácido.
  
- vii) **Análise econômico-financeira:** Foi feita uma análise econômico-financeira para os aminoácidos selecionados, com o dimensionamento e necessidade de investimento para uma planta produtiva, avaliando o custo de produção, planejamento da capacidade produtiva e necessidade de pessoal. Com base neste estudo foi feita uma análise de rentabilidade e um planejamento econômico-financeiro de cada empreendimento, com fluxo de caixa projetado para um período de 5 anos.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Critérios e Tabela de Pontuação

A partir da revisão bibliográfica e dos dados de mercado levantados sobre cada um dos nove aminoácidos essenciais, cada um deles foi pontuado na Tabela 3 conforme os critérios descritos na sessão “Metodologia”, ou seja, Disponibilidade e eficiência da rota biotecnológica (escala TRL); Preço de venda no mercado internacional (US\$/tonelada); Tamanho do mercado (toneladas/ano e US\$/ano), Expectativa de crescimento do mercado (CAGR entre 2020 e 2027) e Produção nacional (Sim/Não):

**Tabela 3** - Pontuações de aminoácidos essenciais e os critérios de seleção.

Aminoácido	Disponibilidade e eficiência da rota biotecnológica - TRL	Preço de venda (US\$/ton)	Tamanho do mercado (tons/ano - 2019)	Tamanho do mercado (US\$/ano - 2019)	Expectativa de crescimento (CAGR 2020-2027)	Produção nacional
Fenilalanina	6-7	8.941	31.460	281.300.000	5,6%	Não
Histidina	4-5	30.000	400	12.000.000	ND	Não
Isoleucina	4-5	17.439	820	14.300.000	5,9%	Sim
Leucina	4-5	9.314	1.020	9.500.000	4,6%	Sim
Lisina	8-9	2.173	2.221.800	4.827.300.000	5,7%	Sim
Metionina	6-9*	9.217	422.800	3.896.800.000	6,5%	Não
Treonina	8-9	1.000	1.007.500	1.007.500.000	6,1%	Não
Triptofano	8-9	14.373	15.960	229.400.000	18,1%	Não
Valina	6-7	17.187	1.600	27.500.000	5,1%	Sim

\* No caso da Metionina, a literatura ainda mostra baixa eficiência da bioprodução, porém ao menos uma empresa (a coreana CJ Bio) já produz o aminoácido em larga escala utilizando a rota biotecnológica.

Fonte: Elaborado pelo autor com dados do relatório Amino Acids Markets – Market Estimates and Trend Analysis, 2021 da Grand View Research.

Dadas as características descritas na Tabela 3 foram selecionados para aprofundamento e simulação do processo produtivo os aminoácidos metionina e triptofano. A metionina foi escolhida devido ao grande tamanho de seu mercado e também pelo fato do Brasil ser um grande importador deste aminoácido (BAIN & COMPANY, Potencial de diversificação da indústria química brasileira – Relatório 4), muito embora a sua produção pela rota biotecnológica seja complexa e relativamente pouco explorada, com apenas uma empresa (a coreana CJ Bio) produzindo o aminoácido por essa via. O triptofano foi escolhido devido à forte perspectiva de crescimento da demanda global do aminoácido (CAGR de

18,1% até 2027), puxada sobretudo por sua utilização na produção de aves e suínos, ao seu alto preço por tonelada e ausência de produção nacional. Este alto preço faz do aminoácido um produto de alto valor agregado, permitindo possivelmente o estabelecimento de plantas de menor tamanho e, conseqüentemente, menor investimento em capital, o que representaria uma oportunidade para produtores e empresas de menor porte.

## 5.2. Produção de Triptofano

### 5.2.1 Escolha e construção do microrganismo

Assim como em qualquer processo biotecnológico, a produtividade passível de ser obtida na produção do triptofano depende de modo fundamental da eficiência do microrganismo na conversão de substrato (glicose ou sacarose) em triptofano e na capacidade das células em exportar este triptofano para o meio, o que, ao mesmo tempo facilita o processo industrial de extração e diminui efeitos de *feedback* reverso, possibilitando maior produção. O avanço da tecnologia de manipulação genética tem facilitado a construção de organismos geneticamente modificados, sendo que a inovação mais recente neste campo, a tecnologia de manipulação usando o ferramental bacteriano CRISPR-Cas9 (já mencionado neste trabalho), tornou muito mais fácil a modificação assertiva e orientada dos microrganismos, com efeito de redução de tempo e custo para o desenho de linhagens superprodutoras do produto de interesse.

Historicamente, a produção de triptofano por rota biotecnológica já foi feita em *Corynebacterium glutamicum* e até mesmo em leveduras, porém o uso destes microrganismos não se mostrou viável do ponto de vista industrial, devido sobretudo à necessidade de inclusão de aditivos (tais como outros aminoácidos e indol), acarretando alto custo (LI et al., 2020). Devido a estes problemas com *C. glutamicum*, a produção de triptofano tem sido feita com uso da bactéria *Escherichia coli*. A Figura 29 ilustra o metabolismo de *E. coli* para a produção de triptofano:

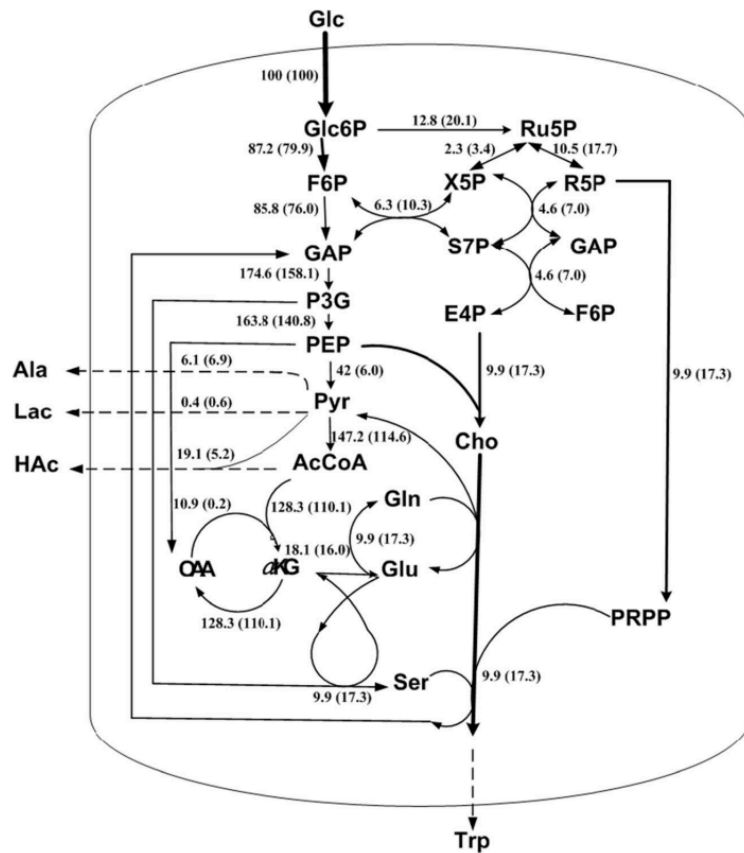


Figura 29 - Metabolismo do triptofano em *E. coli*.

Legenda: Glc = Glicose; GAP = Gliceraldeído-3-Fosfato; P3G = Fosfoglicerato; PEP = Fosfophenolpiruvato; Pyr = Piruvato; AcCoA = Acetilcoenzima A; Ru5P = Rubilose-5-Fosfato; X5P = Xilose- 5-Fosfato; E4P = Eritrose-4-Fosfato; Cho = Corismato; PRPP = 5-Fosforibosil Pirofosfato; OAA = Oxaloacetato;  $\alpha$ KG =  $\alpha$ -acetoglutarato; Gln = Glutamina; Ala = Alanina; Lac = Lactato; Hac = Acetato; Ser = Serina; Trp = Triptofano.

Fonte: Zhao (et al., 2016).

Para a construção de linhagens capazes de produzir triptofano com grande eficiência, alguns objetivos principais devem ser perseguidos por meio de modificações genéticas, destacando-se a redução do acúmulo de acetato, e alterações no sistema celular de transporte de triptofano (WANG J. et al., 2013). A seguir são descritas estratégias de engenharia genética para otimização destes fatores:

- Redução do acúmulo de acetato: O acetato é um inibidor primário em culturas de *E. coli* (WANG J. et al., 2013). Para se obter uma alta concentração de bactérias é necessário minimizar a quantidade de acetato produzida no biorreator. Uma das



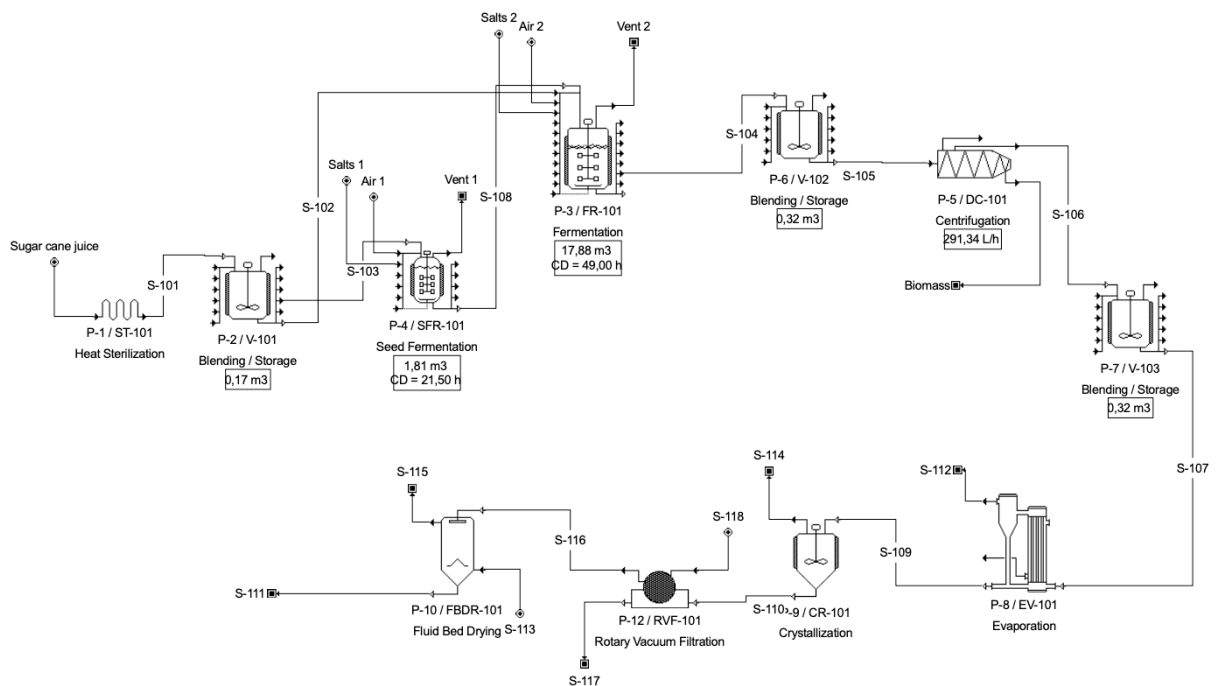
formas para a redução do acúmulo de acetato é a deleção do gene para a fosfato acetiltransferase (*pta*), que leva também ao aumento da produção de triptofano pelas bactérias, chegando a aumento de 46,8% na produção de triptofano em comparação com a geração parental (WANG J. et al., 2013).

- Modificações no sistema de transporte de triptofano: Existem ao menos três sistemas distintos usados para o transporte de triptofano em *E. Coli*, incluindo os sistemas específicos para triptofano (*Mtr* e *TnaB*) e o sistema generalista de permease para transporte de aminoácidos aromáticos, codificado pelo gene *aroP*. O gene *yddG* também tem um importante papel na excreção do triptofano e de outros aminoácidos aromáticos por *E. coli* (WANG J. et al., 2013). Em estudo realizado por Wang J. (et al., 2013) uma linhagem de *E. coli* com superexpressão do gene *yddG* levou a maior excreção de triptofano da célula para o meio. Este aumento no transporte ativo de triptofano contribui tanto para a redução dos efeitos de *feedback* reverso no metabolismo do aminoácido por *E. coli* (permitindo maior produção) quanto diretamente ao aumento do triptofano exportado para o meio extracelular, facilitando o processo *downstream*. Com estas modificações genéticas, é possível obter um aumento de 12,6% no nível de triptofano disponível no meio de cultura ao final da produção (WANG J. et al., 2013).

Em um dos estudos mais influentes sobre a produção de triptofano por via biotecnológica (estudo cujos dados alimentam o modelo produtivo gerado no presente trabalho), Wang J. parte de uma linhagem de *E. coli* previamente modificada por Shen, a linhagem TRTH0709/pMEL03 (SHEN et al., 2012), realizando as modificações genéticas descritas acima e chegando assim a uma concentração máxima de 48,68 g/L de triptofano após passagem pelo biorreator principal, com acúmulo de acetato da ordem de 0,95 g/L e taxa de conversão de glicose em 21,87 % (15,53 % acima da obtida na geração parental) (WANG J. et al., 2013).

## 5.2.2. Estrutura produtiva e CAPEX

A produção de triptofano foi simulada utilizando o *software SuperPro Designer*® e o microorganismo *Escherichia coli* modificado geneticamente da forma, como descrito na sessão anterior. A Figura 30 ilustra o processo produtivo desenhado para uma produção de até 105,2 toneladas de triptofano por ano, o que demandaria a utilização de cerca de 1.398 toneladas de caldo de cana-de-açúcar 36% (volume que se aproxima da produção média anual de uma fazenda de cana-de-açúcar no estado de São Paulo).



**Figura 30** - Processo produtivo do triptofano, simulado no SuperPro Designer®

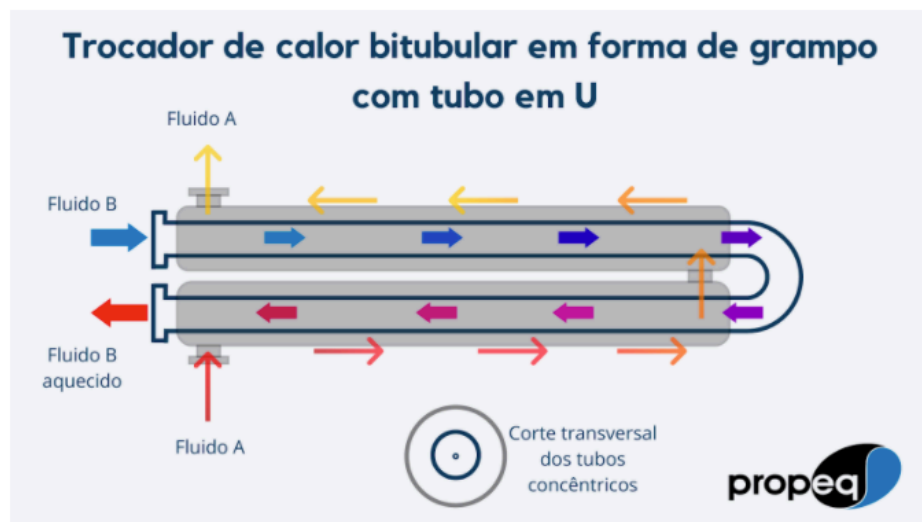
Fonte: Elaborado pelo autor.

A seguir serão descritos cada um dos equipamentos e etapas desse processo produtivo:

- Trocador de calor (*heat sterilization* – P-1 / ST-101): A primeira etapa do processo é a esterilização do caldo de cana por meio de um trocador de calor. Nesta etapa o caldo de cana será aquecido com o uso de água ou vapor em alta temperatura, de forma a eliminar microrganismos vivos que estejam presentes no caldo e que poderiam se proliferar nas etapas seguintes do processo, reduzindo a eficiência da produção do aminoácido e contaminando a amostra. Existem três tipos principais de

trocadores de calor, os trocadores de placas, trocadores de casco e tubo e trocadores tubulares (ou de tubos concêntricos). Cada tipo de trocador de calor é apropriado para um uso específico. No caso em questão, devido ao baixo volume de produção, recomenda-se o uso de um único trocador do tipo tubular, pois são equipamentos mais simples, baratos e fáceis de operar e limpar.

- Em um trocador de calor do tipo tubular existem dois compartimentos principais, sendo um utilizado para o fluido de interesse (no caso, o caldo de cana) e outro para o fluido que fará o aquecimento ou resfriamento do primeiro (neste caso água ou vapor de água). É importante destacar que não há contato ou mistura entre os fluidos, uma vez que os compartimentos são separados em tubos (geralmente de aço inoxidável). A Figura 31 ilustra o funcionamento de um trocador de calor tubular (tipo Grampo ou “Hairpin”):

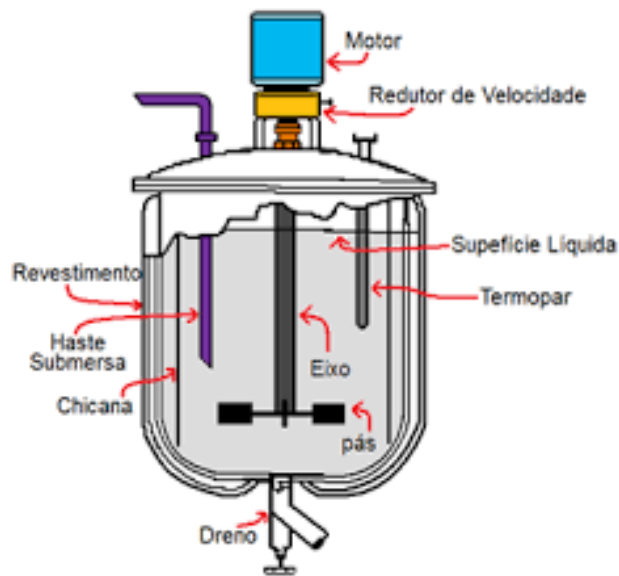


**Figura 31** - Funcionamento de um trocador de calor tubular do tipo hairpin.

Fonte: <https://propeq.com/trocadores-de-calor/>

- Tanque de mistura (blending/storage – P-12 / V-104, P-5 / V-102 e P-7 / V-103): Uma vez feita a esterilização do caldo de cana, ele passa para um tanque de mistura, também conhecido como tanque pulmão (Figura 32). Além de realizar a mistura do material, ajudando na dissolução de sólidos, os tanques pulmão têm a função de compensar as diferenças de capacidade entre os equipamentos do processo, permitindo com que ele flua de maneira contínua. Os tanques de mistura variam bastante em função do tipo de agitador

utilizado, o que por sua vez está relacionado à viscosidade do fluido sendo misturado. Uma vez que a viscosidade do caldo de cana é baixa, geralmente entre  $0,04 \times 10^{-3} \text{Pa.s}$  e  $5 \times 10^{-3} \text{Pa.s}$  (ASTOLFI FILHO, 2011), são indicados tanques de mistura com agitadores do tipo hélice ou turbina. Para produção de triptofano é indicada a utilização de três tanques de mistura em diferentes fases do processo, sendo dois com capacidade útil de ao menos  $0,32 \text{m}^3$  (V-102 e V-103) e um com capacidade útil para  $0,17 \text{m}^3$  (V-104).



**Figura 32** - Esquema de um tanque de mistura.

Fonte:

data:image/png;base64,iVBORw0KGgoAAAANSUhEUgAAAOKAAADZCAMAAADyk+d8AAACLIBMVEX///c3NwAAAAAt+j4+NGRkZMTEZp6emAglDf39/m5uZERET09PTY2Nh2NKLS7OzR0dEwMDCurq6mpqaNjY0mJia6urpxcXFSUIL/wg6GhoaYmJhkZGRVVVXKyspDDmNyd

- Bioreator de inóculo (*Seed Fermentation* – P-4 / SFR-101): Este equipamento é onde será feita a preparação do inóculo, partindo de uma pequena quantidade de células e meio de cultura para chegar a uma grande quantidade de células, que serão enviadas para o reator principal (Figura 33). Estes equipamentos têm o papel fundamental no crescimento da cultura de bactérias que irá realizar a reação, é importante que parâmetros como pH, porcentagem de  $\text{O}_2$  dissolvido e temperatura sejam meticulosamente controlados, de forma que os reatores contêm impelidores (importante para dissolução de  $\text{O}_2$  e aumento da disponibilidade de nutrientes para todas as células), uma série de sensores que possibilitam a medição constante destes parâmetros, bem como entradas e saídas por onde é possível adicionar  $\text{O}_2$ , ácidos e bases para ajuste do pH e camisas cheias de água para

controle da temperatura. Para a realização do processo produtivo em questão recomenda-se o uso de um bioreator de inóculo com capacidade útil de pelo menos 2m<sup>3</sup>.



**Figura 33** - Exemplo de reator de inóculo da empresa chinesa Nanquan Chemical.

Fonte: <https://portuguese.alibaba.com/product-detail/Seed-tank-fermenter-vessel-container-reactor-60712967491.html>

- Bioreator (Fermentation – P-3 / FR-101): O bioreator principal é um equipamento muito similar ao bioreator semente, porém maior. O bioreator é equipamento central do processo produtivo, pois é nele que as bactérias farão a conversão do meio de cultura (catabolismo dos açúcares provenientes do caldo de cana) no produto de interesse (no caso o aminoácido). Para realizar esta função, o bioreator deve ter as mesmas ferramentas para monitoramento e controle de parâmetros produtivos (porcentagem de O<sub>2</sub> dissolvido, pH, temperatura) que o bioreator semente. Para o processo produtivo do triptofano aqui descrito, recomenda-se o uso de 1 bioreator, com capacidade útil de ao menos 18m<sup>3</sup>, sendo este o equipamento que definirá em última instância a capacidade do processo produtivo como um todo (é o gargalo do processo).

- Centrífuga (Centrifugation – P-6 / DC-101): Esta etapa do processo visa iniciar a separação do aminoácido de interesse, produzidos pelas bactérias, da água e demais subprodutos do bioprocessamento, podendo ser considerada a primeira fase da chamada etapa *Downstream* do processo. Nesta centrífuga (chamada de *Decanter Centrifuge* ou Centrífuga de Decantação), a fase sólida do material produzido do bioreator é separada da fase líquida por um processo de decantação, facilitado pela aplicação de forte força centrífuga, que pode chegar a até 4.000g (4.000 x a força gravitacional a nível do mar). O material é encaminhado ao tambor do equipamento por meio de tubos, o tambor gira, acelerando a separação dos materiais sólidos do composto (que tem maior densidade), que são empurrados para as paredes do tambor e coletados por meio de aberturas específicas do equipamento, ao mesmo tempo em que a fase líquida flui para fora do equipamento. No processo de fabricação de aminoácidos, nosso interesse nesta etapa está na separação do material sólido, composto em grande parte pela massa celular das próprias bactérias, do líquido onde está localizado o aminoácido (excretado das células). Esta fase líquida passará então para a próxima fase de purificação (*downstream*). A Figura 34 traz o *design* de uma centrífuga de decantação. No processo aqui desenhado recomenda-se a utilização de uma única centrífuga, com capacidade para ao menos 292 litros/hora.

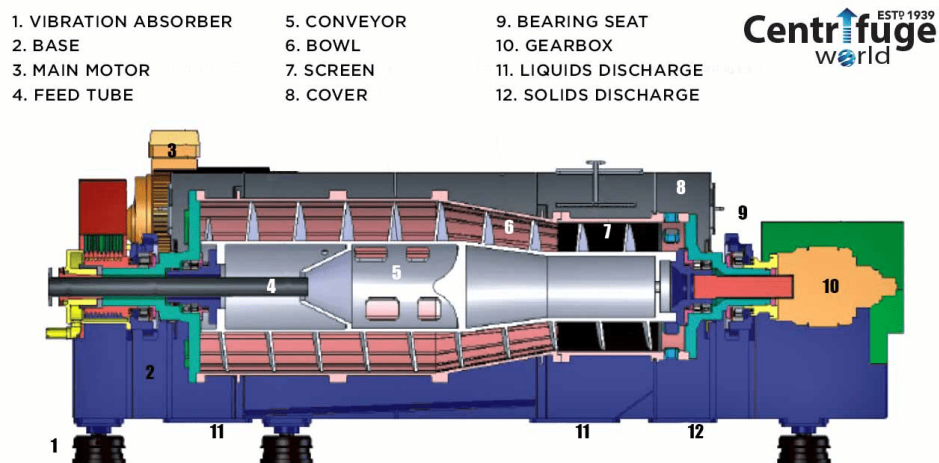
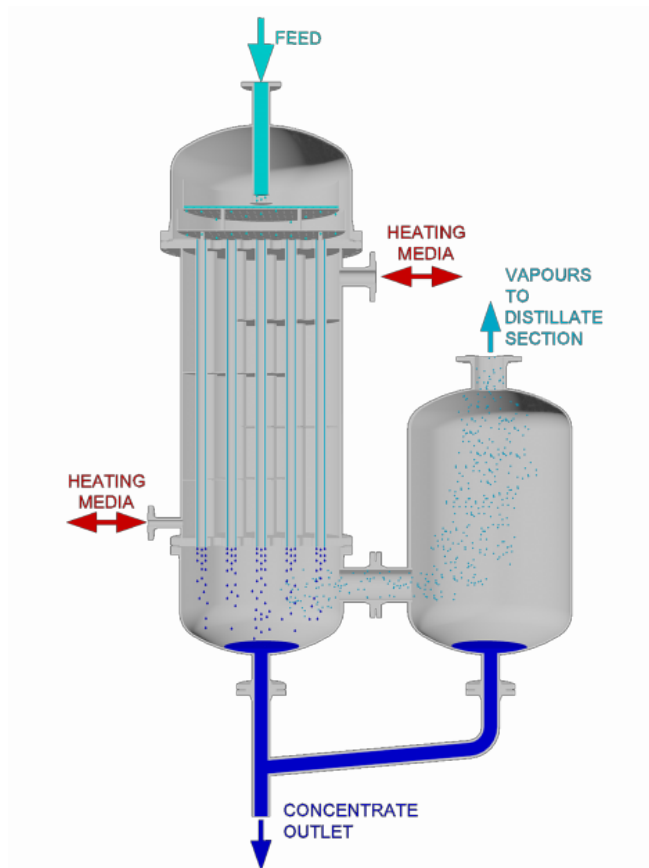


Figura 34 - Modelo de centrífuga de decantação.

Fonte: <https://centrifuge.com/how-a-decanter-centrifuge-works/>

- Coluna de evaporação (Evaporation – P-8 / EV-101): Dando sequência ao processo *downstream* temos a utilização de uma coluna de evaporação. A fase líquida gerada na centrifugação cai para a coluna de evaporação, que separa seus componentes de acordo com

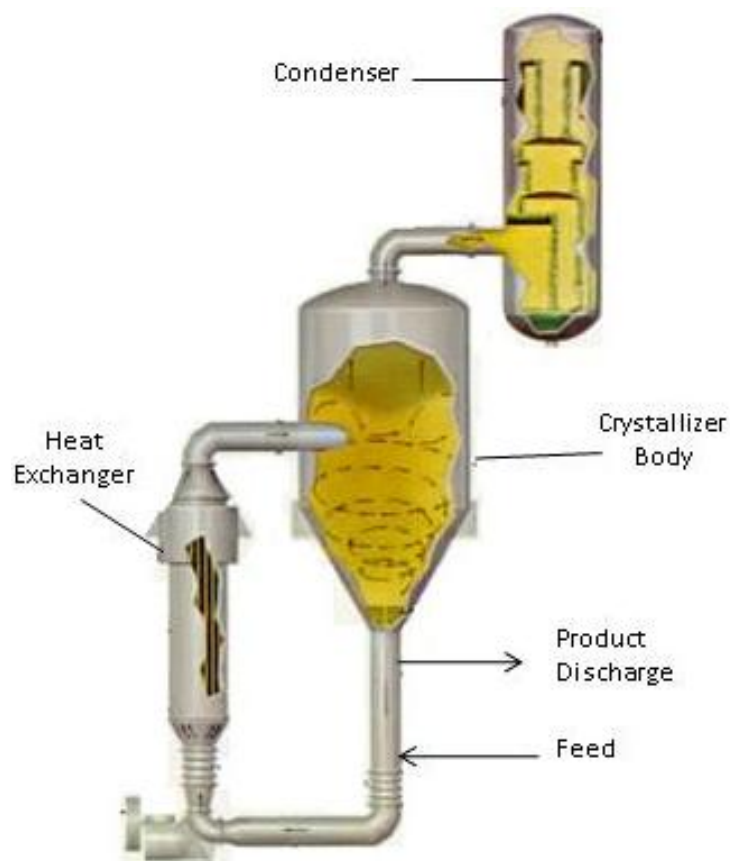
cada ponto de fusão, levando à retirada de água e outros produtos e resultando em um composto ainda mais rico no aminoácido de interesse. Existem diversos tipos de evaporadores, cada um mais adequado para determinado tipo de processo. No processo em questão é utilizada uma coluna de evaporação do tipo *Falling Film*. Nestes equipamentos, o líquido entra por um duto e é escoado por diversos tubos menores, de modo a aumentar a área de contato com as paredes dos dutos. Em uma camisa exterior é passado vapor a alta temperatura, que aquece os dutos, resultando em evaporação do produto dentro de cada um deles. As parcelas evaporadas e não evaporadas são assim separadas, cada uma sendo colhida em um compartimento específico e assim o produto de interesse é purificado. O processo produtivo desenhado para produção de triptofano nas quantidades aqui propostas considera a utilização de uma única coluna de evaporação com dimensão de 0,57m<sup>2</sup>. A Figura 35 ilustra o funcionamento deste equipamento.



**Figura 35** - Funcionamento de uma coluna de evaporação do tipo "Falling Film".

Fonte: <https://www.dedietrich.com/en/solutions-and-products/distillation-evaporation/falling-film-evaporator>

- **Cristalização (Crystallization – P-9 / CR-101):** A próxima etapa do processo é a cristalização, que tem por função purificar o produto e leva à formação de cristais contendo o aminoácido de interesse. Existem diversos tipos de cristalizadores, sendo o Cristalizador de Circulação Forçada o mais utilizado na indústria. Nestes equipamentos, o material é uniformemente misturado a um solvente, que será evaporado, de forma que componentes miscíveis a este solvente serão separados dos imiscíveis. O uso de cristalizadores é uma forma eficiente de purificação, quando os equipamentos costumam ter baixo gasto energético e levam à cristalização do produto de interesse, o que é importante para sua apresentação e aplicação final. No processo de produção de triptofano desenhado sugere-se o uso de um cristalizador de ao menos 0,10m<sup>3</sup>. A Figura 36 ilustra o design e modelo de funcionamento de um cristalizador de circulação forçada.

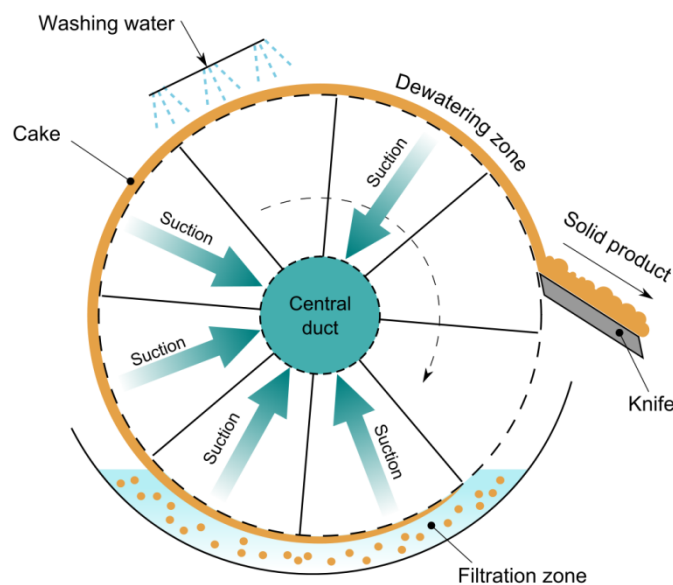


**Figura 36** – Esquema de um cristalizador de circulação forçada.

Fonte: <https://encyclopedia.che.engin.umich.edu/Pages/SeparationsChemical/Crystallizers/Crystallizers.html>



- Tambor de filtração a vácuo (Rotary Vacuum Filtration – P-10 / RVF-101): No tambor de filtração a vácuo o composto é mais uma vez purificado, gerando um produto sólido e altamente concentrado com o aminoácido de interesse. O funcionamento deste equipamento se baseia na utilização de telas com microporos (filtros) em um tambor que rotaciona, imerso no composto de interesse e dentro do qual será aplicada uma pressão negativa, gerando vácuo. Ao rodar desta forma, o produto é separado de líquidos e outras impurezas, acumulando-se na parte exterior do tambor. Na parte superior o produto sólido é então lavado, passando por secagem (feita através do vácuo aplicado no interior do tambor) e sendo retirado por uma lâmina e coletado para a etapa final do processo *downstream*. No processo desenhado para o triptofano recomenda-se a utilização de um tambor de secagem de ao menos 0,33m<sup>2</sup>. A Figura 37 ilustra o funcionamento deste equipamento.

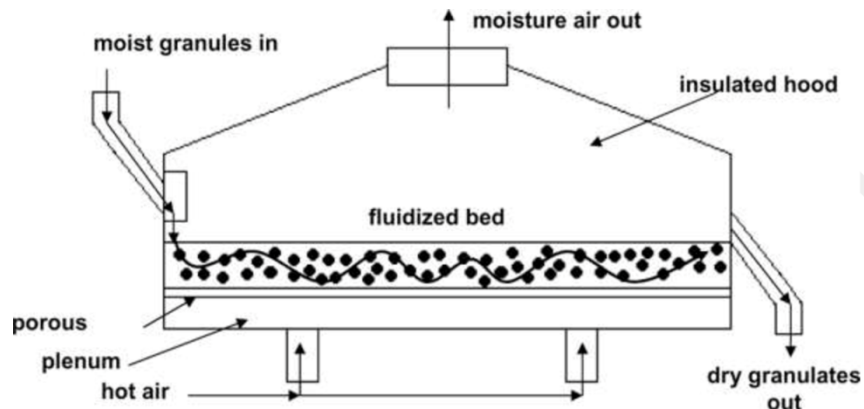


**Figura 37** - Funcionamento de um tambor de filtração à vácuo.

Fonte: [https://en.wikipedia.org/wiki/Rotary\\_vacuum-drum\\_filter#/media/File:Rotary\\_vacuum-drum\\_filter.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Rotary_vacuum-drum_filter#/media/File:Rotary_vacuum-drum_filter.svg)

- Secagem (*Fluid Bed Drying* – P-11 / FBDR-101): A última etapa do processo *downstream* é a secagem em um equipamento conhecido como *Fluid Bed Dryer*. Neste equipamento, o produto resultante da etapa anterior do processo é secado através de um processo de suspensão, por meio do qual o material é “fluidizado”, ou seja, passa a apresentar propriedades físicas típicas de líquidos, através da aplicação de uma corrente

de um gás (geralmente ar filtrado, que pode ser aquecido). Esta corrente suspende e separa as partículas do produto de interesse (neste caso o aminoácido), levando a uma secagem muito mais uniforme e completa do material. No processo para produção de triptofano aqui desenhado estima-se a utilização de um *Fluid Bed Dryer* com capacidade de ao menos 73 litros. A Figura 38 ilustra o funcionamento deste tipo de equipamento.



**Figura 38** - Esquema ilustrativo do funcionamento de um equipamento *Fluid Bed Dryer*.

Fonte: <https://www.semanticscholar.org/paper/Fluidized-Bed-Drying-of-Fruits-and-Vegetables%3A-An-Kumar-Belorkar/3182600846d5194d40f6b7154b57dff444580ec/figure/1>

No modelo produtivo aqui descrito, que considera a produção de cerca de 100 toneladas/ano de triptofano, é prevista a utilização de uma unidade de cada um dos equipamentos descritos. A capacidade e o preço de aquisição destes equipamentos são resumidos na Tabela 4.

**Tabela 4** - Equipamentos para produção de triptofano

<b>Equipamento</b>	<b>Capacidade</b>	<b>Número de unidades</b>	<b>Preço de aquisição (US\$)</b>
Trocador de calor (ST-101)	156,28 L/h	1	490.000
Bioreator de inóculo (SFR-101)	1,81 m <sup>3</sup>	1	43.000
Bioreator (FR-101)	17,88 m <sup>3</sup>	1	164.000
Centrífuga (DC-101)	291,34 L/h	1	74.000
Tanque de mistura (V-101)	0,17 m <sup>3</sup>	1	31.000
Tanque de mistura (V-102)	0,32 m <sup>3</sup>	1	35.000
Tanque de mistura (V-103)	0,32 m <sup>3</sup>	1	34.000
Coluna de evaporação (EV-101)	0,57 m <sup>2</sup>	1	31.000
Cristalizador (CR-101)	0,10 m <sup>3</sup>	1	131.000
Tambor de filtração a vácuo (RVF-101)	0,33 m <sup>2</sup>	1	11.000
Secagem (Fluid Bed Dryer) (FBDR-101)	72,59 L	1	10.000
Custo total dos equipamentos (US\$)		US\$ 1.054.000	
Custo estimado das instalações (10%)		US\$ 105.400	
Custo total dos equipamentos e instalações (US\$)		US\$ 1.159.400	
<b>Custo total dos equipamentos e instalações (R\$)</b>		<b>R\$ 5.808.594</b>	
		(1 US\$ = R\$5,01)	

Fonte: Elaborado pelo autor no software *SuperPro Designer*®

### 5.2.3. Custos de Produção

Os principais custos para a produção do triptofano pela via biotecnológica decorrem das matérias primas utilizadas no processo e seus respectivos preços de aquisição. A Tabela 5 traz os principais custos previstos para uma produção de cerca de 95 toneladas/ano de triptofano (90% da capacidade produtiva do sistema desenhado), as quantidades e preços de aquisição de cada componente foram estimadas com base no desenho do processo feito no *software SuperPro Designer*®:

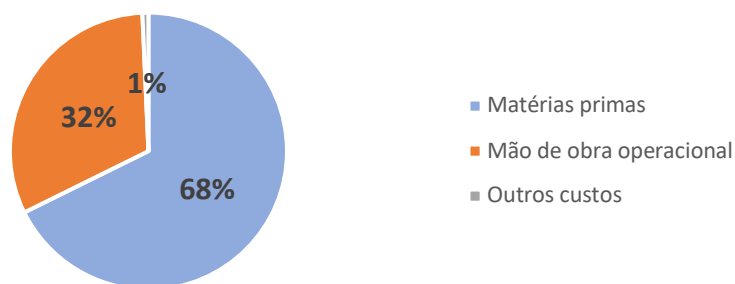
**Tabela 5** - Matérias primas necessárias para a bioprodução de triptofano

Insumo	Preço – R\$/ton	Quantidade – Ton / Ton de Trp	Preço total - R\$/ano
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (sulfato de amônio)	R\$ 1.002	0,111	R\$ 10.526
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (sulfato monopotássico)	R\$ 6.770	0,098	R\$ 62.830
NH <sub>4</sub> OH (hidróxido de amônio)	R\$ 1.390	0,447	R\$ 58.831
Caldo de cana (360)	R\$ 1.049	13,290	R\$ 1.319.831
H <sub>2</sub> O (água)	R\$ 5	18,233	R\$ 8.649
Extrato de levedura	R\$ 32.110	0,056	R\$ 169.821
MgSO <sub>4</sub> (sulfato de magnésio)	R\$ 1.753	0,121	R\$ 20.123
NaOH (hidróxido de sódio)	R\$ 2.505	0,404	R\$ 95.784

Fonte: Elaborado pelo autor

Além das matérias primas, são necessários funcionários operacionais para a produção do aminoácido. No modelo financeiro desenhado é prevista a manutenção de três funcionários operacionais a cada turno (sendo que a produção proposta considera 2 turnos de operação) e um gerente de produção lidando com ambos os turnos. A Figura 39 traz a divisão dos custos gerais para operação de uma planta de bioprodução de triptofano, considerando a produção de 95 toneladas anuais do aminoácido.

**Custos para a bioprodução de triptofano**

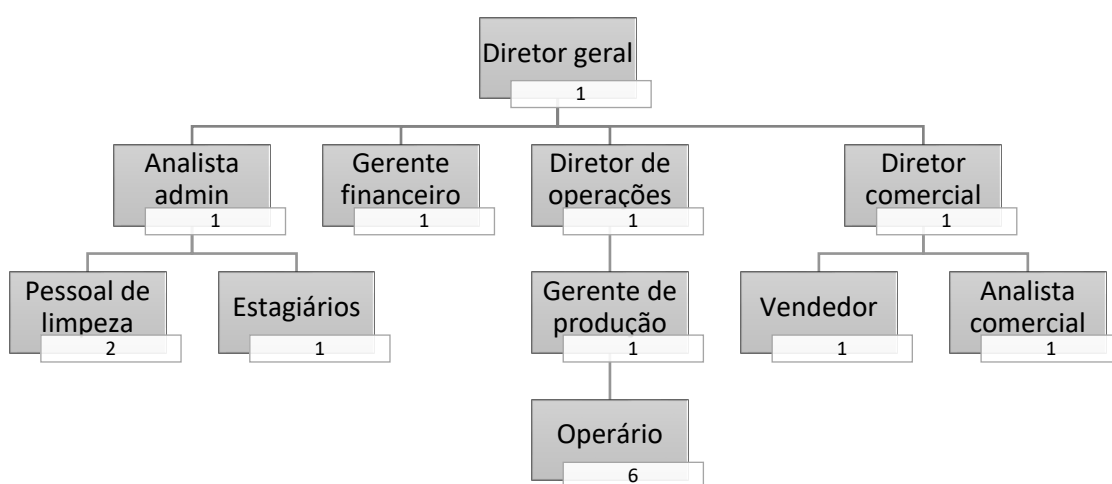


**Figura 39** - Custos envolvidos na bioprodução de triptofano

Fonte: Elaborado pelo autor.

#### 5.2.4. Despesas e Pessoal

A gestão de uma planta para bioprodução de triptofano, nos moldes descritos neste trabalho (produção anual de cerca de 95 toneladas de triptofano) carece ainda do envolvimento de profissionais com funções comerciais e administrativas. A Figura 40 e a Tabela 6 trazem o organograma completo projetado para a operação deste empreendimento e as despesas estimadas para manutenção deste quadro:



**Figura 40** - Organograma de empresa para produção anual de 95 toneladas de triptofano.

Fonte: elaborado pelo autor.

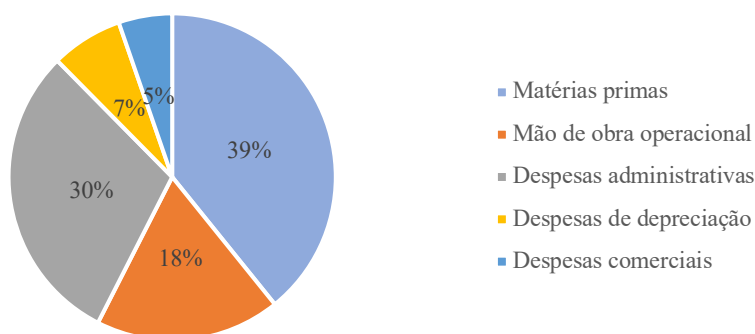
**Tabela 6** - Quadro de funcionários e salários do empreendimento de triptofano

Função	Quantidade	Salário base (R\$/mês)	Modelo de contratação	Despesa anual (com encargos)
Diretor Geral	1	20.000	PJ (+20%)	288.000
<b>Operações</b>				
Diretor de operações	1	15.000	PJ (+20%)	216.000
Gerente de produção	1	10.000	CLT (+70%)	204.000
Operários	6	5.000	CLT (+70%)	612.000
<b>Comercial</b>				
Diretor comercial	1	15.000	PJ (+20%)	216.000
Vendedor	1	5.000	CLT (+70%)	102.000
Analista comercial	1	3.500	CLT (+70%)	71.400
<b>Administrativo</b>				
Gerente financeiro	1	7.500	CLT (+70%)	153.000
Analista administrativo	1	3.500	CLT (+70%)	71.400
Pessoal de limpeza	2	2.000	CLT (+70%)	81.600
Estagiários	1	2.000	CLT (+70%)	40.800
<b>QUADRO TOTAL</b>	<b>17</b>			<b>R\$ 2.056.200/ano</b>

Fonte: Elaborado pelo autor

Além dos custos de produção e deste quadro de profissionais, o empreendimento para bioprodução de triptofano traz ainda a necessidade de investimentos em equipamentos e instalações, com conseqüente despesa de depreciação destes ativos e algumas despesas de cunho comercial e administrativo. O gráfico da Figura 41 ilustra a composição total dos custos e despesas envolvidos na produção, em termos percentuais.

**Custos e Despesas para a bioprodução de triptofano**



**Figura 41** - Principais custos e despesas para bioprodução do triptofano.

Fonte: Elaborado pelo autor.

### 5.2.5. Receita e Mercado

O modelo de receita atrelado à bioprodução de triptofano é bastante simples, sendo atrelado apenas a três fatores, (1) a quantidade de triptofano produzida e vendida; (2) o preço do triptofano no mercado global; e (3) a taxa de câmbio entre o real brasileiro e o dólar dos EUA, uma vez que a cotação dos aminoácidos no mercado global é dada na moeda americana. No modelo proposto neste trabalho, foi desenhada uma produção anual de 95 toneladas/ano de triptofano (calculada como 90% da capacidade produtiva desenhada no modelo do SuperPro Designer, estabelecida em 105 toneladas/ano). Esta quantidade foi estabelecida de modo a ser condizente com a capacidade produtiva de uma fazenda de 321 hectares no Estado de São Paulo, sendo este o tamanho médio de uma fazenda de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo, segundo dados do Observatório da Cana<sup>11</sup>. Uma vez que o mercado global de triptofano está em forte crescimento, com CAGR estimado em 18,1% e devendo movimentar cerca de 60.440 toneladas em 2027 (segundo dados do relatório Amino Acids Market Estimates and Forecasts To 2027, Grand View Research, Inc. USA, 2021.), esta produção de cerca de 95 toneladas/ano representa uma parcela bastante pequena do mercado, de forma que é possível considerar que o empreendimento será capaz de vender toda a sua produção anual. No que diz respeito ao fator preço, segundo dados do mesmo relatório (Amino Acids Market Estimates and Forecasts To 2027, Grand View Research, Inc. USA, 2021), o preço do triptofano no mercado global deverá se manter relativamente estável, saindo de cerca de US\$14.373/ton em 2019 para US\$14.125/ton em 2017. Já as estimativas para a taxa de câmbio brasileira (R\$/US\$) são de crescimento de cerca de cerca de 2,6% no período compreendido entre 2022 e o final de 2026, devendo passar de cerca de R\$5,02 por US\$ no início de 2022 para R\$5,15 por US\$ ao final de 2026, segundo estimativas do banco Bradesco<sup>12</sup>. É importante notar que a desvalorização do real frente ao dólar tende a favorecer o produtor nacional de triptofano, pois, ainda que parte dos insumos produtivos tenha seu preço atrelado ao dólar, o impacto deste fator sobre a receita é maior (já que as despesas, outra parte dos insumos e também os lucros do empreendimento não são atrelados ao dólar). Juntando estes três fatores, chegamos a uma estimativa de receita anual da ordem de R\$6,8 milhões para o empreendimento (sendo esta receita consideravelmente menor no primeiro

---

<sup>11</sup> <https://observatoriodacana.com.br/preco-ao-produtor.php?idMn=42&tipoHistorico=7&acao=visualizar&idTabela=2487&produto=Etanol+hidratado+combust%C3%ADvel&frequencia=Di%2526aacute%253Brio&estado=Paul%C3%ADnia>

<sup>12</sup> <https://www.economiaemdia.com.br/SiteEconomiaEmDia/Projecoos/Longo-Prazo> - acessado em julho de 2022

ano, devido ao período de implantação do empreendimento). A Tabela 7 resume estes resultados.

**Tabela 7** - Projeção de receita do empreendimento de bioprodução de triptofano.

<b>Fator</b>	<b>Ano 1</b>	<b>Ano 2</b>	<b>Ano 3</b>	<b>Ano 4</b>	<b>Ano 5</b>
Quantidade produzida e vendida (tons/ano)	36,8	94,7	94,7	94,7	94,7
Preço do trp no mercado global (US\$/ton)	14.373	14.311	14.249	14.187	14.125
Taxa de câmbio (R\$/US\$, médio do ano)	5,01	5,01	5,07	5,12	5,17
Receita bruta projetada (R\$/ano)	2.651.441	6.781.727	6.833.212	6.870.559	6.907.317

Fonte: Elaborado pelo autor.

#### 5.2.6. Lucratividade e Retorno

A partir dos volumes de produção, preços no mercado internacional e na estrutura de custos e despesas aqui descritos e considerando um prazo de seis meses para instalação da operação e de mais seis meses até que a produção chegue a 90% da capacidade total do sistema produtivo (considerada como a produtividade máxima da operação), podemos construir o Demonstrativo de Resultados para a operação de bioprodução de 95 toneladas anuais de triptofano mostrado na Tabela 8.



Tabela 8 - DRE projetada para o empreendimento de triptofano

<b>Demonstração de resultados do exercício</b>	<b>Ano 1</b>	<b>Ano 2</b>	<b>Ano 3</b>	<b>Ano 4</b>	<b>Ano 5</b>
<b>Receita operacional bruta</b>	<b>R\$ 2.651.441</b>	<b>R\$ 6.781.727</b>	<b>R\$ 6.833.212</b>	<b>R\$ 6.870.559</b>	<b>R\$ 6.907.317</b>
Volume vendido (tons)	36,8	94,7	94,7	94,7	94,7
Preço de venda (R\$/ton)	R\$ 72.011	R\$ 71.628	R\$ 72.172	R\$ 72.566	R\$ 72.954
Outras receitas	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
(-) Impostos sobre Receita	R\$ (597.900)	R\$ (1.529.279)	R\$ (1.540.889)	R\$ (1.549.311)	R\$ (1.557.600)
<b>Receita operacional líquida</b>	<b>R\$ 2.053.541</b>	<b>R\$ 5.252.448</b>	<b>R\$ 5.292.323</b>	<b>R\$ 5.321.248</b>	<b>R\$ 5.349.717</b>
<b>(-) Custo total</b>	<b>R\$ (1.093.946)</b>	<b>R\$ (2.579.841)</b>	<b>R\$ (2.580.073)</b>	<b>R\$ (2.580.266)</b>	<b>R\$ (2.580.460)</b>
Mão de obra operacional	R\$ (408.000)	R\$ (816.000)	R\$ (816.000)	R\$ (816.000)	R\$ (816.000)
Custo das matérias primas	R\$ (679.154)	R\$ (1.746.377)	R\$ (1.746.607)	R\$ (1.746.798)	R\$ (1.746.990)
Energia elétrica e outros custos	R\$ (6.792)	R\$ (17.464)	R\$ (17.466)	R\$ (17.468)	R\$ (17.470)
<b>Lucro bruto</b>	<b>R\$ 959.596</b>	<b>R\$ 2.672.606</b>	<b>R\$ 2.712.250</b>	<b>R\$ 2.740.982</b>	<b>R\$ 2.769.258</b>
<i>Margem bruta</i>	<i>46,7%</i>	<i>50,9%</i>	<i>51,2%</i>	<i>51,5%</i>	<i>51,8%</i>
<b>(-) Despesa total</b>	<b>R\$ (1.423.485)</b>	<b>R\$ (1.575.210)</b>	<b>R\$ (1.575.210)</b>	<b>R\$ (1.575.210)</b>	<b>R\$ (1.575.210)</b>
Despesas comerciais	R\$ (82.845)	R\$ (234.570)	R\$ (234.570)	R\$ (234.570)	R\$ (234.570)
Pessoal comercial	R\$ (28.900)	R\$ (173.400)	R\$ (173.400)	R\$ (173.400)	R\$ (173.400)
Marketing, propaganda e eventos	R\$ (50.000)	R\$ (50.000)	R\$ (50.000)	R\$ (50.000)	R\$ (50.000)
Outras despesas comerciais	R\$ (3.945)	R\$ (11.170)	R\$ (11.170)	R\$ (11.170)	R\$ (11.170)
Despesas administrativas	R\$ (1.340.640)	R\$ (1.340.640)	R\$ (1.340.640)	R\$ (1.340.640)	R\$ (1.340.640)
Salários da diretoria	R\$ (720.000)	R\$ (720.000)	R\$ (720.000)	R\$ (720.000)	R\$ (720.000)
Pessoal administrativo	R\$ (346.800)	R\$ (346.800)	R\$ (346.800)	R\$ (346.800)	R\$ (346.800)
Aluguel	R\$ (120.000)	R\$ (120.000)	R\$ (120.000)	R\$ (120.000)	R\$ (120.000)
Outras despesas associados ao imóvel	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)
Contabilidade	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)
ERP	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)
Outras despesas administrativas	R\$ (63.840)	R\$ (63.840)	R\$ (63.840)	R\$ (63.840)	R\$ (63.840)
<b>EBITDA (LAJIDA)</b>	<b>R\$ (463.889)</b>	<b>R\$ 1.097.396</b>	<b>R\$ 1.137.040</b>	<b>R\$ 1.165.772</b>	<b>R\$ 1.194.048</b>
<i>Margem EBITDA</i>	<i>-22,6%</i>	<i>20,9%</i>	<i>21,5%</i>	<i>21,9%</i>	<i>22,3%</i>
<b>(-) Despesa de depreciação</b>	<b>R\$ (316.832)</b>	<b>R\$ (316.832)</b>	<b>R\$ (316.832)</b>	<b>R\$ (316.832)</b>	<b>R\$ (316.832)</b>
Depreciação de máquinas e equipamentos	R\$ (264.027)	R\$ (264.027)	R\$ (264.027)	R\$ (264.027)	R\$ (264.027)
Depreciação de instalações	R\$ (52.805)	R\$ (52.805)	R\$ (52.805)	R\$ (52.805)	R\$ (52.805)
<b>(-/+) Despesas/Receitas financeiras</b>	<b>R\$ 20.375</b>	<b>R\$ 41.785</b>	<b>R\$ 42.042</b>	<b>R\$ 42.229</b>	<b>R\$ 42.413</b>
Despesas financeiras	R\$ (7.117)	R\$ (7.876)	R\$ (7.876)	R\$ (7.876)	R\$ (7.876)
Receitas financeiras	R\$ 13.257	R\$ 33.909	R\$ 34.166	R\$ 34.353	R\$ 34.537
<b>LAIR</b>	<b>R\$ (760.347)</b>	<b>R\$ 822.349</b>	<b>R\$ 862.250</b>	<b>R\$ 891.168</b>	<b>R\$ 919.628</b>
(-) IR e CSLL	R\$ (37.419)	R\$ (197.364)	R\$ (206.940)	R\$ (213.880)	R\$ (220.711)
<b>Resultado líquido</b>	<b>R\$ (797.767)</b>	<b>R\$ 624.985</b>	<b>R\$ 655.310</b>	<b>R\$ 677.288</b>	<b>R\$ 698.917</b>
<i>Margem líquida</i>	<i>-38,8%</i>	<i>11,9%</i>	<i>12,4%</i>	<i>12,7%</i>	<i>13,1%</i>

Fonte: Elaborado pelo autor.

A necessidade de investimento em equipamentos, instalações e capital de giro para o empreendimento é da ordem de R\$7 milhões, levando à situação patrimonial e à projeção de fluxo de caixa ilustrados na Tabela 9 e na Tabela 10, respectivamente.

**Tabela 9 – Balanço Patrimonial projetado para o empreendimento de triptofano**

<b>Balanço patrimonial</b>	<b>Ano 1</b>	<b>Ano 2</b>	<b>Ano 3</b>	<b>Ano 4</b>	<b>Ano 5</b>
<b>ATIVO</b>					
<b>Ativo circulante</b>	<b>R\$ 1.198.364</b>	<b>R\$ 2.138.948</b>	<b>R\$ 3.112.854</b>	<b>R\$ 4.108.255</b>	<b>R\$ 5.125.265</b>
Caixa e bancos	R\$ 630.198	R\$ 1.573.805	R\$ 2.543.420	R\$ 3.535.708	R\$ 4.549.655
Contas a receber (clientes)	R\$ 568.166	R\$ 565.144	R\$ 569.434	R\$ 572.547	R\$ 575.610
Estoques (produto acabado)	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Estoques (matéria prima)	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
<b>Ativo não-circulante</b>	<b>R\$ 5.491.762</b>	<b>R\$ 5.174.929</b>	<b>R\$ 4.858.097</b>	<b>R\$ 4.541.264</b>	<b>R\$ 4.224.432</b>
Máquinas e equipamentos	R\$ 5.280.540	R\$ 5.280.540	R\$ 5.280.540	R\$ 5.280.540	R\$ 5.280.540
(-) Depreciação de máquinas e equipamentos	R\$ (264.027)	R\$ (528.054)	R\$ (792.081)	R\$ (1.056.108)	R\$ (1.320.135)
Instalações	R\$ 528.054	R\$ 528.054	R\$ 528.054	R\$ 528.054	R\$ 528.054
(-) Depreciação de instalações	R\$ (52.805)	R\$ (105.611)	R\$ (158.416)	R\$ (211.222)	R\$ (264.027)
<b>TOTAL do Ativo</b>	<b>R\$ 6.690.126</b>	<b>R\$ 7.313.878</b>	<b>R\$ 7.970.951</b>	<b>R\$ 8.649.519</b>	<b>R\$ 9.349.697</b>
<b>PASSIVO</b>					
<b>Passivo circulante</b>	<b>R\$ 487.892</b>	<b>R\$ 486.659</b>	<b>R\$ 488.423</b>	<b>R\$ 489.703</b>	<b>R\$ 490.964</b>
Empréstimos de curto prazo	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Fornecedores	R\$ 145.533	R\$ 145.531	R\$ 145.551	R\$ 145.567	R\$ 145.582
Obrigações trabalhistas	R\$ 171.350	R\$ 171.350	R\$ 171.350	R\$ 171.350	R\$ 171.350
Obrigações tributárias	R\$ 145.133	R\$ 143.887	R\$ 145.652	R\$ 146.933	R\$ 148.193
Outras obrigações	R\$ 25.876	R\$ 25.891	R\$ 25.869	R\$ 25.854	R\$ 25.839
<b>Passivo não circulante</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>
Empréstimos de longo prazo	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
<b>PATRIMÔNIO LÍQUIDO</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>
Capital Social	R\$ 7.000.000	R\$ 7.000.000	R\$ 7.000.000	R\$ 7.000.000	R\$ 7.000.000
Lucros / Prejuízos acumulados	R\$ (797.767)	R\$ (172.781)	R\$ 482.528	R\$ 1.159.816	R\$ 1.858.733
<b>TOTAL do Passivo + Patrimônio Líquido</b>	<b>R\$ 6.690.126</b>	<b>R\$ 7.313.878</b>	<b>R\$ 7.970.951</b>	<b>R\$ 8.649.519</b>	<b>R\$ 9.349.697</b>

Fonte: Elaborado pelo autor.

**Tabela 10 - Fluxo de caixa projetado para o empreendimento de triptofano**

<b>Demonstração de Fluxo de Caixa</b>	<b>Ano 1</b>	<b>Ano 2</b>	<b>Ano 3</b>	<b>Ano 4</b>	<b>Ano 5</b>
<b>Fluxo de caixa das Operações</b>	<b>R\$ (561.208)</b>	<b>R\$ 943.607</b>	<b>R\$ 969.615</b>	<b>R\$ 992.289</b>	<b>R\$ 1.013.947</b>
Resultado líquido	R\$ (797.767)	R\$ 624.985	R\$ 655.310	R\$ 677.288	R\$ 698.917
Variação no capital de giro	R\$ (80.274)	R\$ 1.789	R\$ (2.527)	R\$ (1.832)	R\$ (1.802)
Depreciação	R\$ 316.832	R\$ 316.832	R\$ 316.832	R\$ 316.832	R\$ 316.832
<b>Fluxo de caixa dos Investimentos</b>	<b>R\$ (5.808.594)</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>
Investimentos em máquinas e equipamentos	R\$ (5.280.540)	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Investimentos em instalações	R\$ (528.054)	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
<b>Fluxo de caixa dos Financiamentos</b>	<b>R\$ 7.000.000</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>
Empréstimos de longo prazo	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Aumentos de capital	R\$ 7.000.000	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Caixa inicial	R\$ -	R\$ 630.198	R\$ 1.573.805	R\$ 2.543.420	R\$ 3.535.708
Fluxo de caixa livre do período	R\$ 630.198	R\$ 943.607	R\$ 969.615	R\$ 992.289	R\$ 1.013.947
<b>Caixa final</b>	<b>R\$ 630.198</b>	<b>R\$ 1.573.805</b>	<b>R\$ 2.543.420</b>	<b>R\$ 3.535.708</b>	<b>R\$ 4.549.655</b>

Fonte: Elaborado pelo autor.

A partir dos demonstrativos financeiros mostrados e utilizando um custo de capital da ordem de 11,9% a.a, chega-se à conclusão de que o empreendimento para bioprodução de triptofano, nas quantidades e com os fatores de produção utilizados, é financeiramente viável,

produzindo margem líquida entre 11,9% e 13,1% uma vez que o empreendimento chegue a 90% da capacidade produtiva e com Taxa Interna de Retorno da ordem de 17,4% ao ano, segundo ilustrado na Tabela 11.

**Tabela 11** - Custo de capital e taxa de retorno do empreendimento de triptofano

<b>Cálculo do custo de capital (Ke)</b>	
Taxa de juros livre de risco <sup>13</sup>	2,94%
Prêmio de risco de Equity (Equity Risk Premium) <sup>14</sup>	5,69%
Beta desalavancado <sup>15</sup>	1,04
Prêmio de risco país (Brasil) <sup>16</sup>	3,02%
<b>Custo do Capital (Ke)</b>	<b>11,9%</b>
<b>Cálculo do retorno (TIR)</b>	
Fluxo de caixa livre ao acionista - Ano 1	(R\$ 6.369.802)
Fluxo de caixa livre ao acionista - Ano 2	R\$ 943.607
Fluxo de caixa livre ao acionista - Ano 3	R\$ 969.615
Fluxo de caixa livre ao acionista - Ano 4	R\$ 992.289
Fluxo de caixa livre ao acionista - Ano 5	R\$ 1.013.947
Fluxo de caixa livre ao acionista - Perpetuidade	R\$ 1.013.947
VPL da perpetuidade	R\$ 8.536.633
VPL dos fluxos explícitos	(R\$3.035.364)
<b>Taxa Interna de Retorno (TIR)</b>	<b>17,4% a.a</b>

Fonte: Elaborado pelo autor.

A tabela 20, disponibilizada no apêndice, traz todas as premissas utilizadas para a construção do modelo financeiro de produção de triptofano, enquanto a tabela 21 traz uma análise de sensibilidade do retorno desta produção em relação a possíveis variações na taxa de câmbio, um dos fatores de maior impacto na viabilidade da produção.

<sup>13</sup> Rentabilidade média de 1 ano (yield) dos títulos tesouro americano de 10 anos (T-Bonds) até junho/2022. Fonte: [https://home.treasury.gov/resource-center/data-chart-center/interest-rates/TextView?type=daily\\_treasury\\_yield\\_curve&field=tdr\\_date\\_value\\_month=202206](https://home.treasury.gov/resource-center/data-chart-center/interest-rates/TextView?type=daily_treasury_yield_curve&field=tdr_date_value_month=202206)

<sup>14</sup> Rentabilidade média de 10 anos do S&P500 sobre títulos Tesouro americano de 10 anos (T-Bonds) até jan/2022. Fonte: [https://pages.stern.nyu.edu/~adamodar/New\\_Home\\_Page/datafile/implpr.html](https://pages.stern.nyu.edu/~adamodar/New_Home_Page/datafile/implpr.html)

<sup>15</sup> Média dos valores dos betas desalavancados de empresas do segmento de Produtos Químicos Especiais ("Chemical - Specialty") no mundo. Fonte: <https://pages.stern.nyu.edu/~adamodar/> em 05/junho/2022

<sup>16</sup> EMBI+ JP Morgan (IPEADATA; média 6 meses até junho/2022).

Fonte: <http://www.ipeadata.gov.br/ExibeSerie.aspx?serid=40940&module=M>

### 5.3. Produção de Metionina

#### 5.3.1. Escolha e construção do microorganismo

A produção de metionina por rota biotecnológica proporciona vantagens com relação à produção química, dentre as quais se destacam o menor impacto ambiental e a produção apenas do enantiômero levogiro do aminoácido, eliminando a necessidade de separação e descarte da D-metionina (que não é metabolizada por mamíferos ou aves) (Zhou et al., 2019). Ao longo do século XX e início do século XXI, muitos trabalhos estudaram o metabolismo da metionina em *Escherichia coli* e em *Corynebacterium glutamicum*, bem como formas de otimizar este metabolismo através de modificações genéticas (Zhou et al. 2019). A Figura 42 ilustra o metabolismo da metionina em *Corynebacterium glutamicum* e em *Escherichia coli*, em ambos os casos a partir do aspartato.

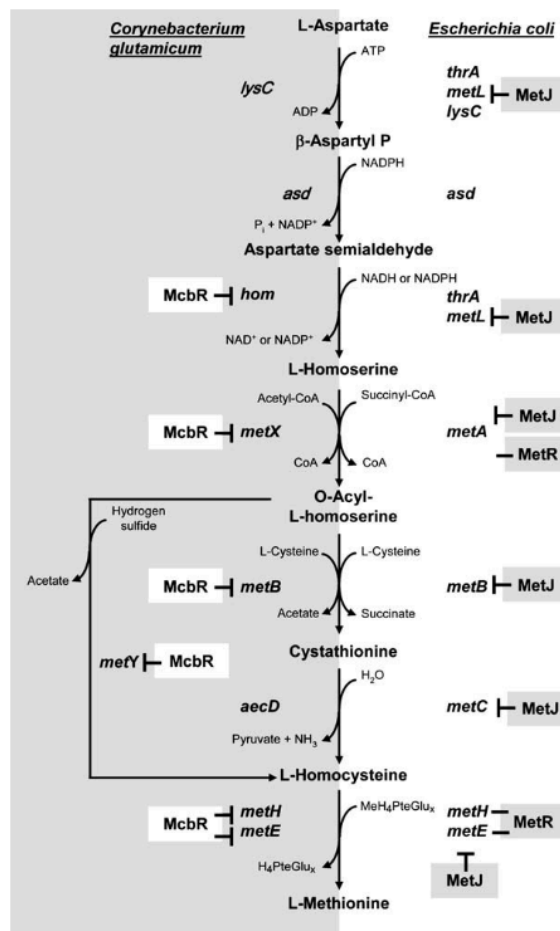


Figura 42 - Metabolismo da metionina em *C. glutamicum* e em *E. coli*.

Fonte: Figge R. 2006.

Em seu trabalho sobre otimização genética de *E. coli* para produção de metionina, Huang (et al., 2018) descreve a criação da linhagem *E. coli* MET-3, contendo um plasmídeo recombinante com genes que proporcionam maior produção de metionina através da: 1. Redução dos mecanismos de *feedback* reverso da S-adenosilmetionina e L-metionina sobre a O-succiniltransferase; 2. Aumento do transporte ativo de L-metionina para fora da célula; e: 3. Aumento da atividade da fosfoglicerato desidrogenase (Huang et al., 2018). Partindo desta linhagem de *E. coli* e com a otimização de um meio de cultura contendo, além de glicose,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , extrato de levedura,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{S}_3\text{O}_3$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e ácido cítrico, chegou-se a uma produtividade volumétrica de 0,261g/(L.h) de metionina, em uma concentração final de 12,8g/L (Zhou et al., 2019). A Tabela 12 ilustra as características da produção descritas no trabalho de Zhou (et al., 2019).

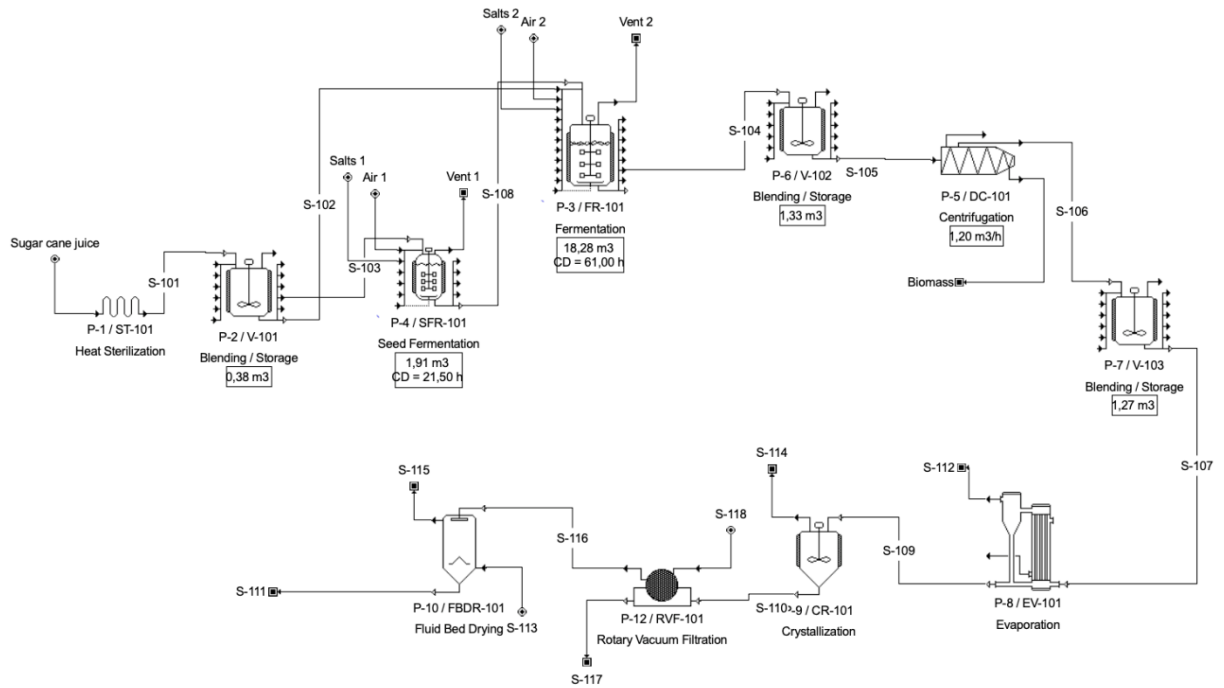
**Tabela 12** - Parâmetros para otimização da produção de L-metionina.

Insumo / Característica	Quantidade otimizada
Glicose	37,43 g/L
Extrato de levedura	0,95 g/L
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1,82 g/L
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4,51 g/L
Concentração final de metionina	12,8 g/L
Produtividade volumétrica de Metionina	0,261 g/(L.h)
Conversão de Glicose em Metionina	0,13 mol/mol

Fonte: Zhou (et al., 2019).

### 5.3.2. Estrutura produtiva e CAPEX

Partindo da linhagem de *E. coli* e características produtivas descritas na Tabela 12, foi desenhado um processo para a produção de L-metionina por rota biotecnológica e utilizando o caldo de cana como fonte de carbono (em substituição à glicose utilizada no trabalho de Zhou (et al.,2019)). O processo foi dimensionado para utilizar cerca de 3.000 toneladas de caldo de cana por ano. A Figura 43 ilustra o processo produtivo feito no software SuperPro Designer.



**Figura 43** - Processo produtivo da metionina, simulado no software SuperPro Designer®

Fonte: Elaborado pelo autor.

Uma vez que, também, trata-se de um sistema para produção de aminoácido por rota biotecnológica, o processo da Figura 43 é bastante similar ao descrito para produção do triptofano, porém existem diferenças relevantes na quantidade de equipamentos utilizados e suas capacidades. A Tabela 13 traz a relação dos equipamentos utilizados para a produção de metionina.

**Tabela 13** - Equipamentos para produção de metionina

<b>Equipamento</b>	<b>Capacidade</b>	<b>Número de unidades</b>	<b>Preço de aquisição unitário (US\$)</b>
Trocador de calor (ST-101)	343,28 L/h	1	490.000
Bioreator de inóculo (SFR-101)	1,92 m <sup>3</sup>	2	43.000
Bioreator (FR-101)	18,28 m <sup>3</sup>	5	164.000
Centrífuga (DC-101)	1,20 m <sup>3</sup> /h	1	74.000
Tanque de mistura (V-101)	0,38 m <sup>3</sup>	1	123.000
Tanque de mistura (V-102)	1,33 m <sup>3</sup>	1	35.000
Tanque de mistura (V-103)	1,27 m <sup>3</sup>	1	34.000
Coluna de evaporação (EV-101)	2,30 m <sup>2</sup>	1	31.000
Cristalizador (CR-101)	0,35 m <sup>3</sup>	1	116.000
Tambor de filtração a vácuo (RVF-101)	0,79 m <sup>2</sup>	1	11.000
Secagem (Fluid Bed Dryer) (FBDR-101)	75,62 L	1	10.000
Custo total dos equipamentos (US\$)			US\$ 1.830.000
Custo estimado das instalações (10%)			US\$ 183.000
Custo total dos equipamentos e instalações (US\$)			US\$ 2.013.000
<b>Custo total dos equipamentos e instalações (R\$)</b>			<b>RS 10.085.130</b> (1 US\$ = R\$5,01)

Fonte: Elaborado pelo autor no software SuperPro Designer®.

### 5.3.3. Custos de Produção

Os principais custos envolvidos na produção da metionina por rota biotecnológica são aqueles associados aos insumos utilizados no processo e, em menor grau, a mão de obra operacional utilizada para a produção. Dentre estes custos, os valores gastos como o caldo de cana e com o extrato de levedura são os mais representativos, como podemos observar na Tabela 14.

**Tabela 14** - Matérias primas necessárias para a bioprodução de metionina.

Insumo	Preço – R\$/ton	Quantidade – Ton / Ton de Met	Preço total - R\$/ano
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (sulfato de amônio)	R\$ 1.002	1,32	R\$ 130.376
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (sulfato monopotássico)	R\$ 6.770	0,30	R\$ 200.700
NH <sub>4</sub> OH (hidróxido de amônio)	R\$ 1.390	0,25	R\$ 33.836
Caldo de cana (360)	R\$ 1.049	28,02	R\$ 2.887.154
H <sub>2</sub> O (água)	R\$ 5	82,68	R\$ 40.693
Extrato de levedura	R\$ 32.110	0,23	R\$ 716.496
MgSO <sub>4</sub> (sulfato de magnésio)	R\$ 1.753	0,25	R\$ 43.904
NaOH (hidróxido de sódio)	R\$ 2.505	1,59	R\$ 390.347
Na <sub>2</sub> S <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (tiosulfato de sódio)	R\$ 2.004	1,30	R\$ 255.525

Fonte: Elaborado pelo autor.

Além dos insumos para a estrutura produtiva desenhada foi considerada uma equipe operacional composta por três funcionários operacionais a cada turno (considerando dois turnos de produção) assim como um gerente de produção responsável por ambos os turnos. O gráfico da Figura 44 traz a alocação dos custos envolvidos na produção de metionina.

**Custos para a bioprodução de metionina**

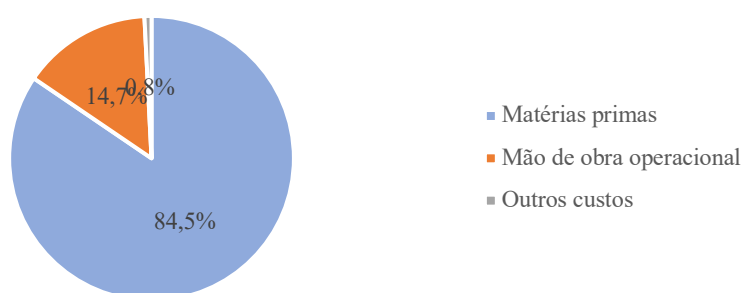


Figura 44 - Custos envolvidos na bioprodução de metionina

Fonte: Elaborado pelo autor.

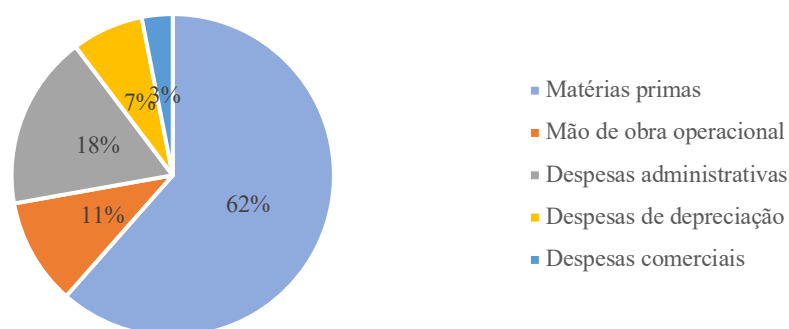
#### 5.3.4. Despesas e Pessoal

Além dos custos diretamente envolvidos na fabricação, o empreendimento para bioprodução de metionina deverá contar ainda com uma equipe administrativa, bem como com a aquisição dos equipamentos e disponibilização de infraestrutura adequada para o ambiente produtivo.



Uma vez que a produção de metionina, como fora citado, considera estrutura produtiva similar à desenhada para a produção de triptofano, apenas com pequenas diferenças nas quantidades e capacidades dos equipamentos, é considerada a mesma equipe operacional e administrativa para a produção de metionina que foi usada na produção de triptofano, isto é, uma equipe de 17 pessoas, distribuídas nas áreas de Operações, Comercial, Administrativo e Diretoria. Já os investimentos em equipamentos e instalações e suas respectivas despesas de depreciação são consideravelmente superiores na produção de metionina, já que a produtividade do processo é bastante inferior para a metionina na comparação com o triptofano, sendo necessária uma estrutura produtiva mais robusta. Fazendo a alocação destes custos e despesas, chegamos à estrutura ilustrada no gráfico da Figura 45.

### Custos e Despesas para a bioprodução de metionina



**Figura 45** - Principais custos e despesas para bioprodução de metionina.

Fonte: Elaborado pelo autor.

#### 5.3.5. Receita e Mercado

O modelo de receita atrelado à bioprodução de metionina é idêntico ao utilizado para o triptofano, ou seja, depende da quantidade do aminoácido vendida, seu preço no mercado internacional e da taxa de câmbio entre o real brasileiro e o dólar dos EUA a cada período. Para a metionina foi desenhada uma produção anual de 98 toneladas/ano (calculada como 90% da capacidade produtiva desenhada no modelo do SuperPro Designer, estabelecida em 109 toneladas/ano). Esta quantidade foi escolhida de forma a ser similar à capacidade desenhada para o triptofano. O mercado da metionina é bastante amplo, devendo chegar a produção global da ordem de 680.890 toneladas em 2027 (segundo estimativa do relatório

Amino Acids Market Estimates and Forecasts To 2027, Grand View Research, Inc. USA., 2021), de forma que a quantidade produzida no modelo representa uma parcela bastante pequena do mercado e é possível considerar que o empreendimento será capaz de vender toda a sua produção anual.

Quanto ao preço, segundo dados do mesmo relatório (Amino Acids Market Estimates and Forecasts To 2027, Grand View Research, Inc. USA), o preço da metionina no mercado global é atualmente de cerca de US\$9.217/tonelada e deverá subir para US\$11.618/tonelada até 2027. As estimativas para a taxa de câmbio seguem os mesmos parâmetros estabelecidos para o triptofano. A Tabela 15 resume estes resultados.

**Tabela 15** - Projeção de receita do empreendimento de bioprodução de metionina

<b>Fator</b>	<b>Ano 1</b>	<b>Ano 2</b>	<b>Ano 3</b>	<b>Ano 4</b>	<b>Ano 5</b>
Quantidade produzida e vendida (tons/ano)	38,2	98,2	98,2	98,2	98,2
Preço da met no mercado global (US\$/ton)	9.217	9.817	10.417	11.017	11.618
Taxa de câmbio (R\$/US\$, médio do ano)	5,01	5,01	5,07	5,12	5,17
Receita bruta projetada (R\$/ano)	1.764.016	4.826.630	5.183.145	5.535.913	5.894.577

Fonte: Elaborado pelo autor.

### 5.3.6. Lucratividade e Retorno

Diferentemente da produção do triptofano, o processo de produção de metionina por rota biotecnológica não se mostra economicamente viável, dadas as condições de rendimento e eficiência disponíveis na literatura científica. Mesmo com as modificações genéticas em *Escherichia coli* propostas por Huang, e as otimizações no meio de cultura propostas por Zhou, a concentração de 12,8 g/L (Zhou et al., 2019) e a conversão de 0,13 mol/mol ainda é demasiado baixa para conferir rentabilidade ao processo ao menos considerados os parâmetros atuais de preço da metionina no mercado internacional e preço do caldo de cana. Como veremos em detalhe nas Tabela 16, Tabela 17 e Tabela 18, a receita obtida com a produção de metionina nestes parâmetros não é suficiente sequer para o das matérias primas envolvidas no processo, muito menos para o pagamento dos funcionários, estrutura produtiva e arcabouço administrativo necessário ao empreendimento. A margem bruta do

empreendimento (receita bruta, deduzidos os custos de matéria prima e funcionários operacionais) chega, mesmo no melhor de seus resultados, no último ano da série projetada, em menos 21,9%. Já que o empreendimento não resulta em lucro em nenhum momento da projeção, não é possível calcular uma taxa de retorno para o empreendimento (sendo claro que o retorno seria negativo). Os demonstrativos de resultado (Tabela 16, Tabela 17 e Tabela 18) ilustram esta realidade.

**Tabela 16 – Demonstração de Resultados do Exercício para a produção de metionina**

<b>Demonstração de resultados do exercício</b>	<b>Ano 1</b>	<b>Ano 2</b>	<b>Ano 3</b>	<b>Ano 4</b>	<b>Ano 5</b>
<b>Receita operacional bruta</b>	<b>R\$ 1.764.016</b>	<b>R\$ 4.826.630</b>	<b>R\$ 5.183.145</b>	<b>R\$ 5.535.913</b>	<b>R\$ 5.894.577</b>
Volume vendido (tons)	38,2	98,2	98,2	98,2	98,2
Preço de venda (R\$/ton)	R\$ 46.175	R\$ 49.134	R\$ 52.763	R\$ 56.354	R\$ 60.005
Outras receitas	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
(-) Impostos sobre Receita	R\$ (397.786)	R\$ (1.088.405)	R\$ (1.168.799)	R\$ (1.248.348)	R\$ (1.329.227)
<b>Receita operacional líquida</b>	<b>R\$ 1.366.231</b>	<b>R\$ 3.738.225</b>	<b>R\$ 4.014.346</b>	<b>R\$ 4.287.564</b>	<b>R\$ 4.565.350</b>
<b>(-) Custo total</b>	<b>R\$ (2.253.674)</b>	<b>R\$ (5.561.887)</b>	<b>R\$ (5.563.464)</b>	<b>R\$ (5.564.779)</b>	<b>R\$ (5.566.093)</b>
Mão de obra operacional	R\$ (408.000)	R\$ (816.000)	R\$ (816.000)	R\$ (816.000)	R\$ (816.000)
Custo das matérias primas	R\$ (1.827.400)	R\$ (4.698.898)	R\$ (4.700.460)	R\$ (4.701.761)	R\$ (4.703.062)
Custo do Tiossulfato de Sódio	R\$ (99.371)	R\$ (255.525)	R\$ (255.525)	R\$ (255.525)	R\$ (255.525)
Energia elétrica e outros custos	R\$ (18.274)	R\$ (46.989)	R\$ (47.005)	R\$ (47.018)	R\$ (47.031)
<b>Lucro bruto</b>	<b>R\$ (887.443)</b>	<b>R\$ (1.823.662)</b>	<b>R\$ (1.549.119)</b>	<b>R\$ (1.277.214)</b>	<b>R\$ (1.000.743)</b>
<i>Margem bruta</i>	<i>-65,0%</i>	<i>-48,8%</i>	<i>-38,6%</i>	<i>-29,8%</i>	<i>-21,9%</i>
<b>(-) Despesa total</b>	<b>R\$ (1.453.830)</b>	<b>R\$ (1.575.210)</b>	<b>R\$ (1.575.210)</b>	<b>R\$ (1.575.210)</b>	<b>R\$ (1.575.210)</b>
Despesas comerciais	R\$ (113.190)	R\$ (234.570)	R\$ (234.570)	R\$ (234.570)	R\$ (234.570)
Pessoal comercial	R\$ (57.800)	R\$ (173.400)	R\$ (173.400)	R\$ (173.400)	R\$ (173.400)
Marketing, propaganda e eventos	R\$ (50.000)	R\$ (50.000)	R\$ (50.000)	R\$ (50.000)	R\$ (50.000)
Outras despesas comerciais	R\$ (5.390)	R\$ (11.170)	R\$ (11.170)	R\$ (11.170)	R\$ (11.170)
Despesas administrativas	R\$ (1.340.640)	R\$ (1.340.640)	R\$ (1.340.640)	R\$ (1.340.640)	R\$ (1.340.640)
Salários da diretoria	R\$ (720.000)	R\$ (720.000)	R\$ (720.000)	R\$ (720.000)	R\$ (720.000)
Pessoal administrativo	R\$ (346.800)	R\$ (346.800)	R\$ (346.800)	R\$ (346.800)	R\$ (346.800)
Aluguel	R\$ (120.000)	R\$ (120.000)	R\$ (120.000)	R\$ (120.000)	R\$ (120.000)
Outras despesas associados ao imóvel	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)
Contabilidade	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)
ERP	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)	R\$ (30.000)
Outras despesas administrativas	R\$ (63.840)	R\$ (63.840)	R\$ (63.840)	R\$ (63.840)	R\$ (63.840)
<b>EBITDA (LAJIDA)</b>	<b>R\$ (2.341.273)</b>	<b>R\$ (3.398.872)</b>	<b>R\$ (3.124.329)</b>	<b>R\$ (2.852.424)</b>	<b>R\$ (2.575.953)</b>
<i>Margem EBITDA</i>	<i>-171,4%</i>	<i>-90,9%</i>	<i>-77,8%</i>	<i>-66,5%</i>	<i>-56,4%</i>
<b>(-) Despesa de depreciação</b>	<b>R\$ (550.098)</b>	<b>R\$ (550.098)</b>	<b>R\$ (550.098)</b>	<b>R\$ (550.098)</b>	<b>R\$ (550.098)</b>
Depreciação de máquinas e equipamentos	R\$ (458.415)	R\$ (458.415)	R\$ (458.415)	R\$ (458.415)	R\$ (458.415)
Depreciação de instalações	R\$ (91.683)	R\$ (91.683)	R\$ (91.683)	R\$ (91.683)	R\$ (91.683)
<b>(-/+ Despesas/Receitas financeiras</b>	<b>R\$ 16.089</b>	<b>R\$ 32.009</b>	<b>R\$ 33.792</b>	<b>R\$ 35.556</b>	<b>R\$ 37.349</b>
Despesas financeiras	R\$ (7.269)	R\$ (7.876)	R\$ (7.876)	R\$ (7.876)	R\$ (7.876)
Receitas financeiras	R\$ 8.820	R\$ 24.133	R\$ 25.916	R\$ 27.680	R\$ 29.473
<b>LAIR</b>	<b>R\$ (2.875.282)</b>	<b>R\$ (3.916.961)</b>	<b>R\$ (3.640.635)</b>	<b>R\$ (3.366.967)</b>	<b>R\$ (3.088.702)</b>
(-) IR e CSLL	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
<b>Resultado líquido</b>	<b>R\$ (2.875.282)</b>	<b>R\$ (3.916.961)</b>	<b>R\$ (3.640.635)</b>	<b>R\$ (3.366.967)</b>	<b>R\$ (3.088.702)</b>
<i>Margem líquida</i>	<i>-210,5%</i>	<i>-104,8%</i>	<i>-90,7%</i>	<i>-78,5%</i>	<i>-67,7%</i>

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 17 – Balanço Patrimonial projetado para o empreendimento de metionina

Balanço patrimonial	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Ano 4	Ano 5
<b>ATIVO</b>					
<b>Ativo circulante</b>	<b>R\$ 267.148</b>	<b>R\$ (3.094.386)</b>	<b>R\$ (6.178.240)</b>	<b>R\$ (8.988.517)</b>	<b>R\$ (11.520.422)</b>
Caixa e bancos	R\$ (110.855)	R\$ (3.496.605)	R\$ (6.610.169)	R\$ (9.449.843)	R\$ (12.011.636)
Contas a receber (clientes)	R\$ 378.004	R\$ 402.219	R\$ 431.929	R\$ 461.326	R\$ 491.215
Estoques (produto acabado)	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Estoques (matéria prima)	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
<b>Ativo não-circulante</b>	<b>R\$ 9.535.032</b>	<b>R\$ 8.984.934</b>	<b>R\$ 8.434.836</b>	<b>R\$ 7.884.738</b>	<b>R\$ 7.334.640</b>
Máquinas e equipamentos	R\$ 9.168.300	R\$ 9.168.300	R\$ 9.168.300	R\$ 9.168.300	R\$ 9.168.300
(-) Depreciação de máquinas e equipamentos	R\$ (458.415)	R\$ (916.830)	R\$ (1.375.245)	R\$ (1.833.660)	R\$ (2.292.075)
Instalações	R\$ 916.830	R\$ 916.830	R\$ 916.830	R\$ 916.830	R\$ 916.830
(-) Depreciação de instalações	R\$ (91.683)	R\$ (183.366)	R\$ (275.049)	R\$ (366.732)	R\$ (458.415)
<b>TOTAL do Ativo</b>	<b>R\$ 9.802.180</b>	<b>R\$ 5.890.548</b>	<b>R\$ 2.256.596</b>	<b>R\$ (1.103.779)</b>	<b>R\$ (4.185.782)</b>
<b>PASSIVO</b>					
<b>Passivo circulante</b>	<b>R\$ 677.463</b>	<b>R\$ 682.791</b>	<b>R\$ 689.473</b>	<b>R\$ 696.065</b>	<b>R\$ 702.765</b>
Empréstimos de curto prazo	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Fornecedores	R\$ 391.586	R\$ 391.575	R\$ 391.705	R\$ 391.813	R\$ 391.922
Obrigações trabalhistas	R\$ 171.350	R\$ 171.350	R\$ 171.350	R\$ 171.350	R\$ 171.350
Obrigações tributárias	R\$ 85.240	R\$ 90.700	R\$ 97.400	R\$ 104.029	R\$ 110.769
Outras obrigações	R\$ 29.287	R\$ 29.166	R\$ 29.019	R\$ 28.873	R\$ 28.724
<b>Passivo não circulante</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>
Empréstimos de longo prazo	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
<b>PATRIMÔNIO LÍQUIDO</b>					
Capital Social	R\$ 12.000.000	R\$ 12.000.000	R\$ 12.000.000	R\$ 12.000.000	R\$ 12.000.000
Lucros / Prejuízos acumulados	R\$ (2.875.282)	R\$ (6.792.243)	R\$ (10.432.878)	R\$ (13.799.844)	R\$ (16.888.547)
<b>TOTAL do Passivo + Patrimônio Líquido</b>	<b>R\$ 9.802.180</b>	<b>R\$ 5.890.548</b>	<b>R\$ 2.256.596</b>	<b>R\$ (1.103.779)</b>	<b>R\$ (4.185.782)</b>

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 18 – Fluxo de caixa projetado para o empreendimento de metionina

Demonstração de Fluxo de Caixa	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Ano 4	Ano 5
<b>Fluxo de caixa das Operações</b>	<b>R\$ (2.025.725)</b>	<b>R\$ (3.385.750)</b>	<b>R\$ (3.113.564)</b>	<b>R\$ (2.839.674)</b>	<b>R\$ (2.561.793)</b>
Resultado líquido	R\$ (2.875.282)	R\$ (3.916.961)	R\$ (3.640.635)	R\$ (3.366.967)	R\$ (3.088.702)
Variação no capital de giro	R\$ 299.459	R\$ (18.887)	R\$ (23.027)	R\$ (22.806)	R\$ (23.189)
Depreciação	R\$ 550.098	R\$ 550.098	R\$ 550.098	R\$ 550.098	R\$ 550.098
<b>Fluxo de caixa dos Investimentos</b>	<b>R\$ (10.085.130)</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>
Investimentos em máquinas e equipamentos	R\$ (9.168.300)	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Investimentos em instalações	R\$ (916.830)	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
<b>Fluxo de caixa dos Financiamentos</b>	<b>R\$ 12.000.000</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ -</b>
Empréstimos de longo prazo	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Aumentos de capital	R\$ 12.000.000	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
<b>Caixa inicial</b>	<b>R\$ -</b>	<b>R\$ (110.855)</b>	<b>R\$ (3.496.605)</b>	<b>R\$ (6.610.169)</b>	<b>R\$ (9.449.843)</b>
Fluxo de caixa livre do período	R\$ (110.855)	R\$ (3.385.750)	R\$ (3.113.564)	R\$ (2.839.674)	R\$ (2.561.793)
<b>Caixa final</b>	<b>R\$ (110.855)</b>	<b>R\$ (3.496.605)</b>	<b>R\$ (6.610.169)</b>	<b>R\$ (9.449.843)</b>	<b>R\$ (12.011.636)</b>

Fonte: Elaborado pelo autor.

Observando os números da projeção detalhadamente, vemos que seria necessário não apenas um grande aumento na eficiência e produtividade do microrganismo na produção de metionina, mas também um significativo aumento de preço do aminoácido no mercado internacional para tornar sua produção viável nas quantidades aqui propostas (de cerca de 100

toneladas por ano). A Tabela 19 ilustra uma condição na qual a produção passaria a se tornar viável, com aumento de 100% na taxa de conversão do microrganismo e aumento simultâneo de 100% no preço da metionina, sobre seu nível atual.

**Tabela 19** - Alterações hipotéticas na produção de metionina e impacto na rentabilidade

<b>Fator</b>	<b>Condição atual</b>	<b>Condição hipotética</b>
Quantidade de caldo de cana (tons/tons de metionina)	28,0	14,0
Preço da metionina (US\$/ton)	9.217	18.433
Taxa de câmbio (R\$/US\$)	5,01	5,01
Quantidade produzida (tons/ano)	98,2	98,2
Receita bruta (R\$/ano)	4.826.630	9.072.084
Custo das matérias primas	4.698.898	3.255.452
Lucro bruto (R\$/ano)	(1.823.662)	2.922.323
Margem bruta (%)	- 48,8%	41,6%
Lucro líquido (R\$/ano)	(3.916.961)	565.202
Margem líquida (%)	- 104,8%	8,0%

Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela 20, disponibilizada no apêndice, traz todas as premissas utilizadas para a construção do modelo financeiro de produção de metionina, enquanto a Tabela 21 traz uma análise de sensibilidade do retorno desta produção em relação a possíveis variações na taxa de câmbio, um dos fatores de maior impacto na viabilidade da produção.

## 6. CONCLUSÕES

Esta dissertação tinha o propósito de responder a questão: É economicamente viável produzir aminoácidos a partir da sacarose da cana-de-açúcar no Brasil? O trabalho tomou a perspectiva de um produtor médio de cana de açúcar do estado de São Paulo, que possui uma produção da ordem de 23.176 toneladas por ano de cana-de-açúcar, resultado em quantidade de caldo de cana (36%) de cerca de 1.500 toneladas/ano e que auferir receita agrícola entre R\$1 e R\$3 milhões anuais com esta produção. Partindo de uma análise de mercado e do estado da arte da produção por rota biotecnológica de todos os nove aminoácidos essenciais, o trabalho escolheu dois destes aminoácidos, a metionina e o triptofano para aprofundamento, buscando na literatura científica os processos produtivos mais eficientes já desenvolvidos para esta produção, com o emprego de microrganismos geneticamente modificados e realizando o desenho de estruturas produtivas no software SuperPro Designer®, dimensionamento de equipamentos e quadro de funcionários e uma projeção financeira de cinco anos que permitiu auferir a viabilidade econômica da produção destes aminoácidos em quantidades condizentes com as capacidades do produtor paulista.

A demanda global de triptofano tem crescido fortemente, com CAGR projetado em 18,1% ao ano até 2027, puxada sobretudo pelo aumento em sua utilização na alimentação de suínos e aves e com o próprio aumento no consumo global destes animais (Amino Acids Market Estimates and Forecasts To 2027, Grand View Research, Inc. USA, 2021). A partir das projeções, chega-se à conclusão de que a produção de triptofano por rota biotecnológica a partir da cana de açúcar é de fato economicamente viável para este produtor, apresentando taxa interna de retorno de 17,4% ao ano (considerando um custo de capital de 11,9% ao ano). Para este empreendimento, o produtor deverá fazer investimento da ordem de R\$7 milhões, dos quais cerca de R\$5,8 milhões serão investidos em equipamentos e instalações (Capex) e o restante sendo disponibilizado para cobrir o fluxo de caixa dos primeiros meses do empreendimento (até que este atinja o breakeven, por volta do nono mês após a compra dos equipamentos). Com a produção de 94,7 toneladas anuais de triptofano, o produtor poderá auferir receita bruta da ordem de R\$6,8 milhões/ano (considerando preço de venda de cerca de US\$14.300/tonelada de triptofano e taxa de câmbio de cerca de R\$5,01/US\$), com margem líquida de 12% (cerca de R\$625.000 de lucro líquido anual). O empreendimento será ainda bastante favorecido por eventuais aumentos no preço de venda do triptofano no mercado internacional e pela desvalorização do real frente ao dólar americano, desde que esta

ocorra após o primeiro ano do empreendimento (dado que o preço dos principais equipamentos, adquiridos no primeiro ano, é atrelado ao dólar).

O mercado global da metionina é grande, movimentando atualmente cerca de US\$3,9 bilhões/ano e com projeções de chegar US\$7,9 bilhões até 2027, crescimento que será puxado sobretudo pelo aumento no consumo de aves (Amino Acids Market Estimates and Forecasts To 2027, Grand View Research, Inc. USA, 2021). As simulações e projeções deste trabalho, no entanto, mostraram que a produção de metionina pela rota biotecnológica ainda não é economicamente viável para o produtor de cana de açúcar brasileiro. Considerando-se os microrganismos mais eficientes para a produção de metionina encontrados na literatura, as linhagens modificadas de *Escherichia coli* construídas por Zhou et al., 2019, com concentração final de metionina de 12,8g/L (Zhou et al., 2019) e conversão de 0,13 mol/mol, a produção de metionina ainda acarreta em uso muito elevado de caldo de cana e outros insumos, de forma que nem mesmo a margem bruta do empreendimento (ou seja, desconsiderando as despesas administrativas, comerciais e com depreciação) se mostra positiva. Para mudar esta realidade, será necessário o desenvolvimento de microrganismos muito mais eficientes na conversão de glicose (ou sacarose, como proposto neste trabalho) em metionina ( $Y_{P/S}$ ) e ainda assim, é possível que esta produção não seja viável, demandando ainda um forte aumento no preço da metionina no mercado internacional e/ou uma forte diminuição no custo das matérias primas, notoriamente o caldo de cana e o extrato de levedura.

O presente trabalho mostrou que o produtor de cana de açúcar brasileiro de médio porte pode obter boa rentabilidade com a produção de pelo menos um aminoácido, o triptofano. Esta possibilidade pode trazer não apenas bons lucros e maior estabilidade ao produtor, algo cada vez mais relevante dada a estagnação do mercado de açúcar e a alta volatilidade do mercado de etanol, mas também prover ao setor agropecuário brasileiro (em especial à produção aves e suínos) uma fonte nacional de um importante insumo à sua produção, atualmente adquirido apenas por meio da importação.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZZARÀ, Antonio et al. **Effects of lysine-arginine association on immune functions in patients with recurrent infections.** *Drugs under experimental and clinical research*, v. 21, n. 2, p. 71-78, 1995.

BAIN & COMPANY. **Potencial de diversificação da indústria química brasileira.** Relatório 4. Aditivos alimentícios. Chamada pública de seleção BNDES/FEP PROSPECÇÃO nº 03/2011. Estudo financiado pelo Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES). Rio de Janeiro, novembro de 2014.

BECKER, Judith; WITTMANN, Christoph. **Systems and synthetic metabolic engineering for amino acid production: the heartbeat of industrial strain development.** *Current opinion in biotechnology*, v. 23, n. 5, p. 718-726, 2012.

DATA INTELO. Data Intelo (ed.). **Global L-Threonine Market Report Segments.** 2022. Disponível em: <https://dataintel.com/report/l-threonine-market/>. Acesso em: 05 maio 2022.

DATA INTELO. **L-Threonine Market Report.** Global Forecast From 2022 To 2030. 2022. Disponível em: <https://dataintel.com/report/l-threonine-market/>

DATA M INTELLIGENCE. **Valine Market Size, Competitive Landscape and Market Forecast - 2029.** Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://www.datamintelligence.com/research-report/valine-market>

DAVIS, Jack Davis. **What are Leucine and Isoleucine?** *News medical life sciences.* Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://www.news-medical.net/life-sciences/What-are-Leucine-and-Isoleucine.aspx>

D'ESTE, Martina; ALVARADO-MORALES, Merlin; ANGELIDAKI, Irimi. **Amino acids production focusing on fermentation technologies: a review.** *Biotechnology advances*, v. 36, n. 1, p. 14-25, 2018.

DONG, Xunyan; QUINN, Peter J.; WANG, Xiaoyuan. **Microbial metabolic engineering for L-threonine production.** In: *Reprogramming Microbial Metabolic Pathways.* Springer, Dordrecht, 2012. p. 283-302.

EFSA. **Panel on additives and products or substances used in animal feed (FEEDAP).** Assessment of the application for renewal of authorisation of l-isoleucine produced by *Escherichia coli* FERM ABP-10641 as a nutritional additive, its extension of use in water for drinking and a new use as flavouring additive for all animal species. *EFSA Journal*, v. 18, n. 2, p. e06022, 2020.

FENG, Li-Yan; XU, Jian-Zhong; ZHANG, Wei-Guo. **Improved L-leucine production in *Corynebacterium glutamicum* by optimizing the aminotransferases.** *Molecules*. v. 23, n. 9, p. 2102, 2018.

GRAND VIEW RESEARCH. **Amino Acids Market Analysis and Segment Forecast to 2027.** San Francisco, CA: Global Industry Reports, 2021. 48 p. (EMIS Acesso restrito).



HASEGAWA, Satoshi et al. **Engineering of *Corynebacterium glutamicum* for high-yield L-valine production under oxygen deprivation conditions.** Applied and environmental microbiology, v. 79, n. 4, p. 1250-1263, 2013.

HUANG, Jian-Feng et al. **Systematic analysis of bottlenecks in a multibranched and multilevel regulated pathway: the molecular fundamentals of l-methionine biosynthesis in *Escherichia coli*.** ACS synthetic biology, v. 7, n. 11, p. 2577-2589, 2018.

HUC CETOGULLARI, Damla; LUO, Zi Wei; LEE, Sang Yup. **Metabolic engineering of microorganisms for production of aromatic compounds.** Microbial Cell Factories, v. 18, n. 1, p. 1-29, 2019.

IHS MARKIT. **Now a part of S&P Global.** 2022. Acesso em 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://ihsmarkit.com/industry/chemical.html>

ISHINO Yoshimizu; KRUPOVIC Mart; FORTERRE Patrick. **History of CRISPR-Cas from Encounter with a Mysterious Repeated Sequence to Genome Editing Technology.** Journal of Bacteriology, 200 (7):e00580-17, 2018.

KAGAN, C. **Lysine therapy for herpes simplex.** Lancet (London, England), v. 1, n. 7848, p. 137, 1974.

KOHLMEIER, Martin. **Nutrient metabolism: structures, functions, and genes.** Academic Press, 2015.

INVEST SP. Agência Paulista de Promoção de Investimentos e Competitividade. **Ajinomoto transforma o Brasil em base estratégica para aminoácidos.** Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://www.investe.sp.gov.br/noticia/ajinomoto-transforma-o-brasil-em-base-estrategica-para-aminoacidos/>

IVANOV, Kalin et al. **Biotechnology in the production of pharmaceutical industry ingredients: amino acids.** Biotechnology & Biotechnological Equipment, v. 27, n. 2, p. 3620-3626, 2013.

LEE, Jun Hyoung et al. **Improved production of L-threonine in *Escherichia coli* by use of a DNA scaffold system.** Applied and environmental microbiology, v. 79, n. 3, p. 774-782, 2013.

LEUCHTENBERGER, Wolfgang; HUTHMACHER, Klaus; DRAUZ, Karlheinz. **Biotechnological production of amino acids and derivatives: current status and prospects.** Applied microbiology and biotechnology, v. 69, n. 1, p. 1-8, 2005.

LI, Fengna et al. **Leucine nutrition in animals and humans: mTOR signaling and beyond.** Amino acids, v. 41, n. 5, p. 1185, 2011.

LIU, Lina et al. **Metabolic Engineering and Fermentation Process Strategies for L-Tryptophan Production by *Escherichia coli*.** Processes, v. 7, n. 4, p. 213, 2019.

LIU, Xiaozhen et al. **Metabolic engineering for the production of L-phenylalanine in *Escherichia coli*.** 3 Biotech, v. 9, n. 3, p. 85, 2019.

LIU, Yongfei et al. **Genetic engineering of *Escherichia coli* to improve L-phenylalanine production.** BMC biotechnology, v. 18, n. 1, p. 5, 2018.

MAHMOOD, Zafar Alam. **Microbial amino acids production.** Microbial Biotechnology: Progress and Trends, v. 187, 2014.

MANDEGARI, M. A; FARZAD S.; GÖRGENS J.F. **Recent trends on techno-economic assessment (TEA) of sugarcane biorefineries.** Biofuel Research Journal 15 (2017) 704-712.

MAO, Xiangbing et al. **Specific roles of threonine in intestinal mucosal integrity and barrier function.** Front Biosci, v. 3, n. 1192, p. 200, 2011.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. National Center for Biotechnology Information. **L-Isoleucine.** 2022. Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6306>

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. National Center for Biotechnology Information. **L-Threonine.** 2022. Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/L-Threonine>

OKAMOTO, Kazuyuki; IKEDA, Masato. **Development of an industrially stable process for L-threonine fermentation by an L-methionine-auxotrophic mutant of *Escherichia coli*.** Journal of bioscience and bioengineering, v. 89, n. 1, p. 87-89, 2000.

OECD AGRICULTURE STATISTICS. Oced (ed.). **Figure 1.35. Food consumption in 2020/21 (COVID-scenario vs. baseline).** Oecd Library, [S.L.], 2019. Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD). <http://dx.doi.org/10.1787/888934141665>. Disponível em: <https://www.oecd-ilibrary.org/sites/3736a600-en/index.html?>

PARK, Soo-Dong et al. **Characteristics of methionine production by an engineered *Corynebacterium glutamicum* strain.** Metabolic engineering, v. 9, n. 4, p. 327-336, 2007.

PEDROSO, João AB; ZAMPIERI, Thais T.; DONATO, Jose. **Reviewing the effects of L-leucine supplementation in the regulation of food intake, energy balance, and glucose homeostasis.** Nutrients, v. 7, n. 5, p. 3914-3937, 2015.

PERSISTENCE MARKET RESEARCH. **Valine Market: Global Industry Trend Analysis 2012 to 2017 and Forecast 2017 - 2025.** Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://www.persistencemarketresearch.com/market-research/valine-market.asp>

POLIFAR. **Professional manufacturer for food and feed additive.** Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://www.polifar.com/>

PUB C HEM. National Library Of Medicine (ed.). **L-Isoleucine.** 2004/2022. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6306>. Acesso em: 05 maio 2022.

PUB C HEM. National Library Of Medicine (ed.). **Metabolism/Metabolites**. 2004/2022. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6306#section=Metabolism-Metabolites>. Acesso em: 05 maio 2022.

PUB C HEM. National Library Of Medicine (ed.). **L-Threonine**. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/l-Threonine>. Acesso em: 25 maio 2022.

RESEARCH AND MARKETS. GlobeNewsWire (ed.). **Global Amino Acid Market (2021 to 2026): by product type, source and region. by Product Type, Source and Region**. 2021. Disponível em: <https://www.globenewswire.com/news-release/2021/09/03/2291440/28124/en/Global-Amino-Acid-Market-2021-to-2026-by-Product-Type-Source-and-Region.html>. Acesso em: 24 maio 2022.

RUGGERI, Christine. **Threonine: The Amino Acid Needed for Collagen Production**. 2019. Disponível em: <https://draxe.com/nutrition/threonine/>

RX LIST. **Threonine**. 2021. Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://www.rxlist.com/threonine/supplements.htm>

SANCHEZ, S.; DEMAIN, A. L. **Fermentation industrial**. Production of Amino Acids. 2014. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/288178144\\_Fermentation\\_Industrial\\_Production\\_of\\_Amino\\_Acids](https://www.researchgate.net/publication/288178144_Fermentation_Industrial_Production_of_Amino_Acids)

SCHWENTNER, Andreas et al. **Modular systems metabolic engineering enables balancing of relevant pathways for L-histidine production with Corynebacterium glutamicum**. Biotechnology for biofuels, v. 12, n. 1, p. 65, 2019.

SCIENCE DIRECT. **L-Phenylalanine**. Dansyl-L phenylalanine (dns-L-Phe) was imprinted in acrylic-based polymer. From: Molecularly Imprinted Sensors, 2012. Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/l-phenylalanine>

SCIENCE DIRECT. **Auxotrophic Mutant**. Auxotrophic mutants with defects in menadiolone, haemin or thymidine synthesis cause SCV formation as well as a poorly understood 'phenotypic switch' that allows cells to alternate between fast- and slow-growing states [98]. From: Molecular Medical Microbiology (Second Edition), 2015. Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/auxotrophic-mutant>

SCIENCE DIRECT. **Isoleucine**. Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/isoleucine>

SEUNG-HOON, Lee. **Daesang Corporation Succeeds in Developing L-Histidine First in Korea**. L-Histidine Development. 2017. Disponível em: <http://www.businesskorea.co.kr/news/articleView.html?idxno=19569>

TRANSPARENCY MARKET RESEARCH. **Threonine Market - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, and Forecast 2019 - 2027**. Acesso em: 8 de julho de 2022. Disponível em: <https://www.transparencymarketresearch.com/threonine-market.html>

WANG, Jian; CHENG, Li-Kun; CHEN, Ning. **High-level production of L-threonine by recombinant *Escherichia coli* with combined feeding strategies.** *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, v. 28, n. 3, p. 495-501, 2014.

WANG, Jian; CHENG, Li-Kun; WANG, Jing; LIU, Qian; SHEN, Tong; CHEN, Ning. **Genetic engineering of *Escherichia coli* to enhance production of L-tryptophan.** *Applied Microbiology Biotechnology* (2013) 97:7587–7596.

WANG, Xiaoyuan; ZHANG, Hailing; QUINN, Peter J. **Production of L-valine from metabolically engineered *Corynebacterium glutamicum*.** *Applied microbiology and biotechnology*, v. 102, n. 10, p. 4319-4330, 2018.

WANG, Ying-Yu et al. **Rational modification of the carbon metabolism of *Corynebacterium glutamicum* to enhance l-leucine production.** *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, p. 1-11, 2020.

WILLKE, Thomas. **Methionine production: a critical review.** *Applied microbiology and biotechnology*, v. 98, n. 24, p. 9893-9914, 2014.

YIN, L. et al. **Increasing l-isoleucine production in *Corynebacterium glutamicum* by overexpressing global regulator Lrp and two-component export system Brn FE.** *Journal of applied microbiology*, v. 114, n. 5, p. 1369-1377, 2013.

YOKOTA, Atsushi; IKEDA, Masato (Ed.). **Amino acid fermentation.** Tokyo, Japan: Springer, 2017.

ZHAO, Jianxun et al. **Overexpression of ribosome elongation factor G and recycling factor increases L-isoleucine production in *Corynebacterium glutamicum*.** *Applied microbiology and biotechnology*, v. 99, n. 11, p. 4795-4805, 2015.

ZHOU, Hai-Yan et al. **Enhanced L-methionine production by genetically engineered *Escherichia coli* through fermentation optimization.** *3 Biotech*, v. 9, n. 3, p. 96, 2019.

## 8. APÊNDICE

### 8.1. Premissas financeiras usadas para o modelo de produção de triptofano

**Tabela 20** – Premissas usadas para o modelo de produção de triptofano

Premissa	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Ano 4	Ano 5
Taxa de câmbio (R\$/US\$)	R\$ 5,01	R\$ 5,01	R\$ 5,07	R\$ 5,12	R\$ 5,17
Capacidade produtiva máxima (tons/ano)	105,20	105,20	105,20	105,20	105,20
% da capacidade efetivamente produzido	50%	90%	90%	90%	90%
% da produção efetivamente vendido	100%	100%	100%	100%	100%
% de venda do estoque	0%	100%	100%	100%	100%
Preço de venda (US\$/ton)	\$ 14.373,43	\$ 14.311,26	\$ 14.249,09	\$ 14.186,92	\$ 14.124,75
IPI	0%	0%	0%	0%	0%
ICMS	13%	13%	13%	13%	13%
PIS	2%	2%	2%	2%	2%
Cofins	8%	8%	8%	8%	8%
CSLL	9%	9%	9%	9%	9%
IR	15%	15%	15%	15%	15%
Quantidade de sulfato de amônia (tons/ton de trp)	0,111	0,111	0,111	0,111	0,111
Quantidade de KH2PO4 (sulfato monopotássico) (tons/ton de trp)	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098
Quantidade de NH4OH (hidróxido de amônio) (tons/ton de trp)	0,447	0,447	0,447	0,447	0,447
Quantidade de caldo de cana (tons/ton de trp)	13,290	13,290	13,290	13,290	13,290
Quantidade de água (tons/ton de trp)	18,233	18,233	18,233	18,233	18,233
Quantidade de extrato de levedura (tons/ton de trp)	0,056	0,056	0,056	0,056	0,056
Quantidade de sulfato de magnésio (tons/ton de trp)	0,121	0,121	0,121	0,121	0,121
Quantidade de NaOH (0,5M) (tons/ton de trp)	0,404	0,404	0,404	0,404	0,404
Preço do sulfato de amônia (R\$/ton)	R\$ 1.002,00	R\$ 1.001,00	R\$ 1.013,00	R\$ 1.023,00	R\$ 1.033,00
Preço do KH2PO4 (sulfato monopotássico) (R\$/ton)	R\$ 6.770,00	R\$ 6.770,00	R\$ 6.770,00	R\$ 6.770,00	R\$ 6.770,00
Preço do NH4OH (hidróxido de amônio) (R\$/ton)	R\$ 1.390,00	R\$ 1.390,00	R\$ 1.390,00	R\$ 1.390,00	R\$ 1.390,00
Preço do caldo de cana (R\$/ton)	R\$ 1.048,91	R\$ 1.048,91	R\$ 1.048,91	R\$ 1.048,91	R\$ 1.048,91
Preço da água (R\$/ton)	R\$ 5,01	R\$ 5,01	R\$ 5,07	R\$ 5,12	R\$ 5,17
Preço do extrato de levedura (R\$/ton)	R\$ 32.110,00	R\$ 32.110,00	R\$ 32.110,00	R\$ 32.110,00	R\$ 32.110,00
Preço do sulfato de magnésio (R\$/ton)	R\$ 1.753,50	R\$ 1.751,75	R\$ 1.772,75	R\$ 1.790,25	R\$ 1.807,75
Preço do NaOH (R\$/ton)	R\$ 2.505,00	R\$ 2.502,50	R\$ 2.532,50	R\$ 2.557,50	R\$ 2.582,50
Quantidade de caldo de cana 360/Ton de cana de açúcar (ton/ton)	0,0667	0,0667	0,0667	0,0667	0,0667
Preço da tonelada de cana de açúcar (R\$/ton)	R\$ 70,00	R\$ 70,00	R\$ 70,00	R\$ 70,00	R\$ 70,00
Número de turnos de produção	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Número de operários / turno	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Número de operários / gerente de produção	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Volume de vendas / vendedor (R\$/mês)	R\$ 1.000.000	R\$ 1.000.000	R\$ 1.000.000	R\$ 1.000.000	R\$ 1.000.000
Número de analistas comerciais / vendedor	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Número de outros colaboradores / analista admin	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Número de funcionários de limpeza / turno	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Número de outros colaboradores / estagiário	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Adicional PJ - Encargos e benefícios (%)	20%	20%	20%	20%	20%
Adicional CLT - Encargos e benefícios (%)	70%	70%	70%	70%	70%
Orçamento de marketing, propaganda e eventos (R\$/ano)	R\$ 50.000,00	R\$ 50.000,00	R\$ 50.000,00	R\$ 50.000,00	R\$ 50.000,00
Aluguel	R\$ 10.000,00	R\$ 10.000,00	R\$ 10.000,00	R\$ 10.000,00	R\$ 10.000,00
Contabilidade	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00
ERP	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00
Capital Social (inicial)	R\$ 7.000.000	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Investimento em máquinas e equipamentos	R\$ 5.280.540	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Tempo de depreciação dos equipamentos (anos)	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Investimento em instalações	R\$ 528.054	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Tempo de depreciação das instalações (anos)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Taxa de juros livre de risco	2,94%	2,9%	2,9%	2,9%	2,9%
Prêmio de risco de Equity (Equity Risk Premium)	5,7%	5,7%	5,7%	5,7%	5,7%
Beta desalavancado	1,04	104,0%	104,0%	104,0%	104,0%
Prêmio de risco país (Brasil)	3,02%	3,0%	3,0%	3,0%	3,0%
Taxa de crescimento na perpetuidade (g) (% anual)	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

### 8.2. Sensibilidade do Modelo de Produção de Triptofano em Relação à taxa de câmbio (BRL/US\$)

**Tabela 21** – Sensibilidade do retorno da produção de triptofano em relação à taxa de câmbio

Taxa de câmbio (BRL/US\$)	Retorno (TIR)
R\$ 4,01	NA (negativo)
R\$ 4,51	3,0% a.a
R\$ 5,01	17,4% a.a
R\$ 5,51	23% a.a
R\$ 6,01	29,3% a.a

### 8.3. Premissas Financeiras usadas para o Modelo de Produção de Metionina

**Tabela 22** – Premissas usadas para o modelo de produção de triptofano

Premissa	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Ano 4	Ano 5
Taxa de câmbio (R\$/US\$)	R\$ 5,01	R\$ 5,01	R\$ 5,07	R\$ 5,12	R\$ 5,17
Capacidade produtiva máxima (tons/ano)	109,15	109,15	109,15	109,15	109,15
% da capacidade efetivamente produzido	50%	90%	90%	90%	90%
% da produção efetivamente vendido	100%	100%	100%	100%	100%
% de venda do estoque	0%	100%	100%	100%	100%
Preço de venda (US\$/ton)	\$ 9.216,65	\$ 9.816,89	\$ 10.417,12	\$ 11.017,36	\$ 11.617,59
IPI	0%	0%	0%	0%	0%
ICMS	13%	13%	13%	13%	13%
PIS	2%	2%	2%	2%	2%
Cofins	8%	8%	8%	8%	8%
CSLL	9%	9%	9%	9%	9%
IR	15%	15%	15%	15%	15%
Quantidade de (NH4)2SO4 sulfato de amônia (tons/ton de met)	1,32	1,32	1,32	1,32	1,32
Quantidade de KH2PO4 (sulfato monopotássico) (tons/ton de met)	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Quantidade de NH4OH (hidróxido de amônio) (tons/ton de met)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Quantidade de caldo de cana (tons/ton de met)	28,02	28,02	28,02	28,02	28,02
Quantidade de água (tons/ton de met)	82,68	82,68	82,68	82,68	82,68
Quantidade de extrato de levedura (tons/ton de met)	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
Quantidade de sulfato de magnésio (tons/ton de met)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Quantidade de NaOH (0,5M) (tons/ton de met)	1,59	1,59	1,59	1,59	1,59
Quantidade de Na2S3O3 (Tiosulfato de Sódio)	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30
Preço do sulfato de amônia (R\$/ton)	R\$ 1.002,00	R\$ 1.001,00	R\$ 1.013,00	R\$ 1.023,00	R\$ 1.033,00
Preço do KH2PO4 (sulfato monopotássico) (R\$/ton)	R\$ 6.770,00	R\$ 6.770,00	R\$ 6.770,00	R\$ 6.770,00	R\$ 6.770,00
Preço do NH4OH (hidróxido de amônio) (R\$/ton)	R\$ 1.390,00	R\$ 1.390,00	R\$ 1.390,00	R\$ 1.390,00	R\$ 1.390,00
Preço do caldo de cana (R\$/ton)	R\$ 1.048,91	R\$ 1.048,91	R\$ 1.048,91	R\$ 1.048,91	R\$ 1.048,91
Preço da água (R\$/ton)	R\$ 5,01	R\$ 5,01	R\$ 5,01	R\$ 5,01	R\$ 5,01
Preço do extrato de levedura (R\$/ton)	R\$ 32.110,00	R\$ 32.110,00	R\$ 32.110,00	R\$ 32.110,00	R\$ 32.110,00
Preço do sulfato de magnésio (tons/ton de met)	R\$ 1.753,50	R\$ 1.751,75	R\$ 1.772,75	R\$ 1.790,25	R\$ 1.807,75
Preço do NaOH (0,5M) (R\$/ton)	R\$ 2.505,00	R\$ 2.502,50	R\$ 2.532,50	R\$ 2.557,50	R\$ 2.582,50
Preço do Na2S3O3 (Tiosulfato de Sódio) (R\$/ton)	R\$ 2.004,00	R\$ 2.002,00	R\$ 2.026,00	R\$ 2.046,00	R\$ 2.066,00
Quantidade de caldo de cana 360/Ton de cana de açúcar (ton/ton)	0,0667	0,0667	0,0667	0,0667	0,0667
Preço da tonelada de cana de açúcar (R\$/ton)	R\$ 70,00	R\$ 70,00	R\$ 70,00	R\$ 70,00	R\$ 70,00
Número de turnos de produção	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Número de operários / turno	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Número de operários / gerente de produção	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Volume de vendas / vendedor (R\$/mês)	R\$ 500.000	R\$ 500.000	R\$ 500.000	R\$ 500.000	R\$ 500.000
Número de analistas comerciais / vendedor	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Número de outros colaboradores / analista admin	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Número de funcionários de limpeza / turno	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Número de outros colaboradores / estagiário	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Adicional PJ - Encargos e benefícios (%)	20%	20%	20%	20%	20%
Adicional CLT - Encargos e benefícios (%)	70%	70%	70%	70%	70%
Orçamento de marketing, propaganda e eventos (R\$/ano)	R\$ 50.000,00	R\$ 50.000,00	R\$ 50.000,00	R\$ 50.000,00	R\$ 50.000,00
Aluguel	R\$ 10.000,00	R\$ 10.000,00	R\$ 10.000,00	R\$ 10.000,00	R\$ 10.000,00
Contabilidade	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00
ERP	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00	R\$ 2.500,00
Capital Social (inicial)	R\$ 12.000.000	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Investimento em máquinas e equipamentos	R\$ 9.168.300	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Tempo de depreciação dos equipamentos (anos)	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Investimento em instalações	R\$ 916.830	R\$ -	R\$ -	R\$ -	R\$ -
Tempo de depreciação das instalações (anos)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Taxa de juros livre de risco	2,94%	2,9%	2,9%	2,9%	2,9%
Prêmio de risco de Equity (Equity Risk Premium)	5,7%	5,7%	5,7%	5,7%	5,7%
Beta desalavancado	1,04	104,0%	104,0%	104,0%	104,0%
Prêmio de risco país (Brasil)	3,02%	3,0%	3,0%	3,0%	3,0%
Taxa de crescimento na perpetuidade (g) (% anual)	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

### 8.2. Sensibilidade do Modelo de Produção de Metionina em Relação à Taxa de Câmbio (BRL/US\$)

**Tabela 23** – Sensibilidade do retorno da produção de triptofano em relação à taxa de câmbio

Taxa de câmbio (BRL/US\$)	Retorno (TIR)
R\$ 4,01	NA (negativo)
R\$ 4,51	NA (negativo)
R\$ 5,01	NA (negativo)
R\$ 5,51	NA (negativo)
R\$ 6,01	NA (negativo)