



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

ROBSON DOS SANTOS BARBOSA

**OTIMIZAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO DAS RAMAS DE BATATA-DOCE
(*IPOMOEA BATATAS LAM. (L)*) UTILIZANDO ÁCIDO SULFÚRICO DILUÍDO**

**Palmas – TO
2016**

ROBSON DOS SANTOS BARBOSA

**OTIMIZAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO DAS RAMAS DE BATATA-DOCE
(*IPOMOEA BATATAS LAM. (L)*) UTILIZANDO ÁCIDO SULFÚRICO DILUÍDO**

Dissertação apresentada ao curso de mestrado em Agroenergia da Universidade Federal do Tocantins, em cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de mestre em Agroenergia.

Orientador: Prof. Tarso da Costa Alvim, Dr.
Coorientadora: Kallyana M. C. Dominices, Ms

**Palmas – TO
2016**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITARIO DE PALMAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA

OTIMIZAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO DAS RAMAS DE BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas lam. (l)*) UTILIZANDO ÁCIDO SULFÚRICO DILUÍDO

ALUNO: Robson dos Santos Barbosa

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente

Prof. Dr. Tarso da Costa Alvim (UFT)

Examinadores:

Prof. Dr. Solange Aparecida Ságio (UFT)

Prof. Dr. Adão Lincon Bezerra Montel (UFT)

Data da Defesa: 17/05/2016

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGA para o formato da Dissertação foram contempladas:

Prof. Dr. Tarso da Costa Alvim (UFT)

Orientador

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

B238o Barbosa, Robson Dos Santos .

Otimização Do Pré-Tratamento Das Ramas De Batata-Doce (Ipomoea Batatas Lam. (L)) Utilizando Ácido Sulfúrico Diluído. / Robson Dos Santos Barbosa. – Palmas, TO, 2016.

75 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Agroenergia, 2016.

Orientador: Tarso da Costa Alvim

Coorientadora : Kallyana Moraes Carvalho Dominices

1. Ipomoea batatas. 2. Superfície de resposta. 3. Fator de severidade. 4. Etanol de segunda geração . I. Título

CDD 333.7

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

*Que a força do medo que tenho
não me impeça de ver o que anseio
que a morte de tudo em que acredito
não me tape os ouvidos e a boca
porque metade de mim é o que eu grito
mas a outra metade é silêncio. (..)*

Trecho da música metade – Oswaldo Montenegro

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por tudo que me foi proporcionado nesta jornada de mestrado.

Gostaria de agradecer também:

A meu orientador Professor Doutor Tarso da Costa Alvim pela oportunidade, confiança e orientação que me foram prestadas

A Minha coorientadora professora Kallyana Moraes Carvalho Dominices a qual sem o auxílio e orientação este trabalho não teria se realizado (de verdade).

A colega Gabriela Eustáquio Lacerda pelo grande apoio no laboratório, e pela prestatividade durante a realização deste trabalho.

A minha família em especial minha mãe Maria Edinalva dos Santos Barbosa, e meu pai Valdeci Pires Barbosa pelo apoio e incentivo, sem eles não estariam onde estou agora.

Aos meus irmãos Jaqueline dos Santos Barbosa e Bruno dos Santos Barbosa que sempre estão na torcida por mim.

Aos amigos de vários anos, em especial a Pamella Fronza Câmara e Juliana Santos Moura cuja amizade espero levar por toda vida.

Aos professores do mestrado em Agroenergia pela conhecimento e experiência que foram passados.

Aos colegas do mestrado em Agroenergia pelo apoio e companheirismo.

Aos colegas dos Laboratórios LPPN, menção especial ao colega Ilsamar Soares, LASPER e LANA.

A todos que contribuíram direta e indiretamente com este trabalho e que infelizmente neste momento posso não lembrar (desculpe por isso ;).

Muito obrigado

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo Geral.....	15
2.2. Objetivos específicos.....	15
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1. Biocombustíveis	16
3.2. Bioetanol.....	16
3.2.1. Etanol de fontes diretamente fermentescíveis.....	17
3.2.2. Etanol de fontes amiláceas	18
3.2.2.1. Batata-doce.....	19
3.2.3. Etanol Lignocelulósico.....	20
3.3. Materiais lignocelulósicos	20
3.3.1. Celulose	21
3.3.2. Hemicelulose.....	22
3.3.3. Lignina.....	23
3.4. Pré-tratamentos.....	23
3.4.1. Líquido iônico	24
3.4.2. Organosolv	24
3.4.3. Alcalino.....	25
3.4.4. Ácido diluído.....	26
3.4.5. Hidrotérmico	27
3.4.6. Explosão de vapor.....	27
3.4.7. Explosão de fibra com amônia (AFEX) e Explosão com CO ₂	28
3.4.8. Oxidação úmida	29
3.4.9. Ozonólise	29

3.4.10. Biológico.....	30
Tabela 1: Referências de estudos encontrados na literatura de diversas formas de pré-tratamento.....	Erro! Indicador não definido.
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1. Obtenção da matéria-prima	31
4.2. Preparo da matéria-prima	31
4.3. Pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído.....	32
4.4. Separação do hidrolisado	33
4.5. Determinações analíticas	34
4.5.1. Determinação de cinzas	34
4.5.2. Caracterização da matéria-prima	34
4.5.3. Caracterização do hidrolisado	35
4.6. Metodologia para otimização do processo	37
5.2. Impacto do fator combinado de severidade.....	40
5.3. Otimização da hidrólise ácida.....	43
5.3.1. Modelagem Glicose.....	44
5.3.2. Modelagem Xilose	48
5.3.3. Modelagem Arabinose.....	50
5.3.4. Modelagem Furfural	53
5.3.5. Modelagem HMF	56
5.4. Otimização das respostas	59
6. CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
APÊNDICE A – Cromatogramas de padrões e amostra (ensaio n° 22) de carboidratos e ácido acético.....	72
APÊNDICE B - Cromatogramas de padrões e amostra (ensaio n° 22) de Furfural e HMF	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Referências de estudos encontrados na literatura de diversas formas de pré-tratamento.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 2: Variáveis do planejamento composto central	32
Tabela 3: Padrões de carboidratos	36
Tabela 4: Padrões de inibidores.....	37
Tabela 5: Resultado caracterização ramas batata-doce.....	40
Tabela 6: Efeitos do FCS no rendimento de carboidratos e inibidores.	41
Tabela 7: Resultados dos ensaios planejamento composto central para monossacarídeos e inibidores.	43
Tabela 8 : Análise de Variância (ANOVA) para superfície de resposta da Glicose de modelo Quadrático.....	47
Tabela 9: Coeficientes do modelo Xilose	49
Tabela 10: Tabela de ANOVA para superfície de resposta Xilose modelo Linear	49
Tabela 11: Coeficientes do modelo Arabinose	51
Tabela 12: Análise de Variância (ANOVA) para superfície de resposta Arabinose modelo Quadrático.	52
Tabela 13: Análise de Variância (ANOVA) para superfície de resposta furfural modelo Quadrático	54
Tabela 14: Análise de Variância (ANOVA) para superfície de resposta furfural modelo Quadrático	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Rotas de obtenção do Etanol.....	17
Figura 2: Efeito do pré-tratamento na estrutura lignocelulósica.....	20
Figura 3: Subunidade (glucose) e fórmula estrutural da cellulose.....	21
Figura 4: Arranjo de pentoses formando a estrutura molecular da hemicelulose.....	22
Figura 5: Estrutura molecular de uma subunidade da lignina.....	23
Figura 6: Fluxograma pré-tratamento ramas da batata-doce.....	31
Figura 7: Correlação entre fator de severidade e rendimento de glicose xilose e arabinose.....	42
Figura 8: Gráfico de Pareto para coeficientes da concentração de glicose.....	45
Figura 9: Superfície de resposta glicose: a - carga de sólidos (SL) x temperatura (TC); b - carga de sólidos (SL) x concentração de ácido (CA); carga de sólidos (SL)x tempo (TP).	47
Figura 10: Gráfico de Pareto para coeficientes da concentração de xilose.....	48
Figura 11: Superfície de resposta glicose: a - carga de sólidos (SL) x temperatura (TC); b - carga de sólidos (SL) x concentração de ácido (CA); carga de sólidos (SL) x tempo (TP).....	50
Figura 12: Gráfico de Pareto para coeficientes da concentração de Arabinose.....	51
Figura 13: Superfície de resposta xilose: a - carga de sólidos (SL) x temperatura (TC); b - carga de sólidos (SL) x concentração de ácido (CA).....	53
Figura 14: Gráfico de Pareto para coeficientes da concentração de Furfural.....	54
Figura 15: Superfície de resposta furfural: a - carga de sólidos (SL) x temperatura (TC); b - carga de sólidos (SL) x concentração de ácido (CA); carga de sólidos (SL) x tempo (TP).	55
Figura 16: Gráfico de contorno modelo Furfural.....	56
Figura 17: Gráfico de Pareto para coeficientes da concentração de HMF.....	56
Figura 18: Superfície de resposta HMF: a - Concentração de ácido (CA) x Carga de sólidos (SL); b - Carga de sólidos (SL) x Temperatura (TC); c - Concentração de ácido (CA) x temperatura (TP).....	58
Figura 19: Resultado otimização das respostas do planejamento composto central.....	60

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

t: Toneladas
g/L: Gramas por litro
ha: Hectare
EtOH: Etanol
CO₂: Gás carbônico
CSF: Fator de severidade
g: Gramas
BD: Batata-doce
BDI: Batata-doce industrial
nm: Nanômetro
μL: Microlitros
R²: Fator de correlação
rpm: Rotação por minuto
atm: Atmosférico
M: Molar
°GL: Grau Gay-Lussac
L: litros
°C: Grau Celsius
β: beta
α: alfa
Kg: kilograma
m: metro
cm: centímetro
ml: mililitros
pH: potencial hidrogeniônico
T: temperatura
d: densidade
GL: grau de liberdade
QM: quadrado médio
F: Teste F
ANOVA: Análise de variância

MA: Ministério da Agricultura

ANP: Agência Nacional do Petróleo

EMBRAPA: Empresa brasileira de pesquisa agropecuária

UFT: Universidade Federal do Tocantins

LASPER: Laboratório de sistemas de produção de energia a partir de fontes renováveis

IPC: International Potato Center

PROÁLCOOL: Programa Nacional do Álcool

RESUMO

BARBOSA, R. S. Otimização do pré-tratamento com ácido diluído das ramas de batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam. (L)) 2016. P. 66. Dissertação (Mestrado) Agroenergia, Universidade Federal do Tocantins – UFT.

As tecnologias produtivas para etanol de segunda geração apresentam um grande potencial sustentável, pois podem diminuir o impacto de biomassa que são descartadas como lixo no ambiente e ainda pode propiciar o melhor aproveitamento de culturas destinadas a obtenção de etanol de primeira geração. Para tornar viável a produção de etanol de segunda geração uma etapa crucial é o pré-tratamento, este melhora a acessibilidade de enzimas na matriz de celulose, aumentando a eficiência do processo, além de liberar açúcares fermentescíveis diminuindo o uso de enzimas. Portanto este trabalho teve como objetivo otimizar as condições de pré-tratamento com ácido diluído da rama da batata-doce. Para desenvolvimento do experimento foi aplicado um planejamento composto central variando temperatura (60° C a 120°C), tempo (30 a 90 minutos), carga de sólidos (2 a 10%,) e concentração de ácido sulfúrico (1 a 5%). As variáveis de resposta foram as concentrações de monômeros (glicose, xilose e arabinose) e inibidores (HMF, furfural) no hidrolisado. As condições operacionais ótimas para o experimento foram definidas como temperatura de 105° C, tempo de processo de 75 minutos, carga de sólidos de 8%, e concentração de ácido de 4%, nessas condições teríamos 12,63g/l de glicose, 5,01g/l de xilose, 3,63g/l de arabinose, 0,17g/l de furfural e 0,29g/l de HMF

Palavras-chave: *Ipomoea batatas*, superfície de resposta, fator de severidade, etanol de segunda geração.

ABSTRACT

BARBOSA, R. S. Otimização do pré-tratamento com ácido diluído das ramas de batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam. (L)) 2016. P. 66. Dissertação (Mestrado) Agroenergia, Universidade Federal do Tocantins – UFT.

The production technologies for second-generation ethanol has great sustainable potential because they can reduce the impact of biomass that are discarded as waste in the environment and they can also provide the best use of first-generation ethanol crops than the current one. To make second generation ethanol production feasible the critical step is the pre-treatment, which improve enzymes accessibility in cellulose matrix, thus increasing process efficiency, and free sugars, reducing the enzymes loading. Therefore, this study aimed to optimize the conditions of dilute acid pretreatment of sweet potato foliage. To develop the experiment was used a central composite design with four factors: temperature (60 ° to 120 °), time (30 to 90 minutes), solids loading (2% to 10%) and acid concentration (1% to 5%). The response variables were the concentrations of monomers (glucose, xylose and arabinose) and inhibitors (HMF, furfural) in the hydrolysate. In more severe conditions it was possible to obtain 100% yield to arabinose, 38.46% to glucose and 63% to xylose, with negligible formation of inhibitors. The optimum operating conditions for the experiment were set to 105 ° C, 75 minutes process time, 8% solids loading, and concentration of 4% acid sulfuric, these conditions result in a release of 12,63g/l of glucose, 5, 01 g/l of xylose, 3,63 g/l of arabinose, 0,17 g/l of furfural and 0.29 g/l of HMF.

Keywords: *Ipomoea batatas*, response surface, severity factor, second generation ethanol.

1. INTRODUÇÃO

A sustentabilidade é um dos assuntos mais discutidos nas reuniões de líderes globais nos últimos anos. Na recente conferência mundial para o clima (COP21) realizada em Paris, foi mais uma vez confirmada a necessidade de se buscar formas de manter o crescimento econômico sem esgotar os recursos naturais existentes no planeta.

No que tange o setor energético o foco está na substituição dos combustíveis fósseis que hoje representam a principal fonte de energia em vários países. O uso destes combustíveis tem contribuído para o aumento do efeito estufa, além disso, há a ameaça de esgotamento das reservas existente em algumas décadas.

Dentre várias alternativas possíveis para substituição dos combustíveis fósseis, o etanol tem recebido bastante atenção nos últimos anos. Esse biocombustível já está consolidado como uma fonte renovável em substituição à gasolina e tem a capacidade de poluição menor em relação a esta.

No entanto a tecnologia de produção de etanol mais utilizada atualmente possui desvantagens a longo prazo, necessitando de mais terra para o plantio e considerável uso de irrigação e ainda pode possivelmente concorrer com culturas voltadas para alimentação. Esses pontos negativos se agravam conforme aumenta a demanda por esse biocombustível. Com base nesse fato, nos últimos anos vários pesquisadores buscam desenvolver tecnologias para produção de etanol de segunda geração feito a partir de biomassa lignocelulósica.

O desenvolvimento de tecnologias para obtenção de etanol de segunda geração apresenta um grande potencial, pois pode diminuir o impacto de biomassa que são descartadas como lixo no ambiente e ainda pode propiciar o melhor aproveitamento de culturas destinadas a obtenção de etanol de primeira geração.

A produção de etanol de segunda geração utiliza biomassa lignocelulósica que corresponde uma boa parte do lixo que é descartado no ambiente como resto de alimentos e poda de árvores, por exemplo. Indústrias alimentícias geram anualmente milhões de toneladas de resíduos que por muitas vezes são simplesmente descartados.

Com o desenvolvimento de tecnologias para combustíveis de segunda geração será possível utilizar esses resíduos agroindustriais para gerar energia agregando valor ao processo e diminuindo o impacto ambiental dessas atividades. A hidrólise ácida foi um dos primeiros pré-tratamentos utilizados na conversão de materiais lignocelulósicos em etanol, sua utilização produz além de monossacarídeos fermentescíveis compostos como furfural e hidroximetilfurfural (HMF) que são inibidores do processo fermentativo, mas também podem ser considerados subprodutos em uma abordagem voltada para biorefinarias.

Dessa forma, considerando os pontos destacados acima, nota-se a importância de pesquisas relacionadas ao aperfeiçoamento de processos de obtenção de combustíveis de segunda geração.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- Otimizar as condições de pré-tratamento da rama da batata-doce com ácido diluído obtendo maior liberação de açúcares e menor formação de inibidores.

2.2. Objetivos específicos

- Verificar a relação entre o fator combinado de severidade e o rendimento de açúcares e a concentração de inibidores;
- Construir modelos empíricos para predição de valores das respostas dos experimentos;
- Definir por meio da técnica de desejabilidade os parâmetros ótimos para condução do pré-tratamento com ácido diluído.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Biocombustíveis

O termo biocombustível refere-se aos combustíveis líquidos ou gasosos do setor de transportes os quais são predominantemente produzidos da biomassa. Dentre os principais combustíveis produzidos a partir destes recursos naturais pode-se destacar o etanol, DMF, butanol e biodiesel (combustíveis líquidos), o hidrogênio e o metano (combustíveis gasosos) (SILVA, 2009).

Biocombustíveis são importantes porque podem substituir o petróleo gerando uma série de benefícios ambientais e também econômicos, como a produção para uso interno e exportação para outros países. (BALAT; BALAT; ÖZ, 2008).

Os biocombustíveis apresentam as seguintes vantagens: (a) podem ser facilmente obtidos a partir de fontes de biomassa abundantes e baratas; (b) seu uso permite reduzir a emissão de carbono para a atmosfera (GARCIA, 2012); (c) eles são biodegradáveis e contribuem para a sustentabilidade (PUPPAN, 2002; HAHN-HÄGERDAL et al., 2006).

3.2. Bioetanol

Atualmente, o etanol (C_2H_5OH ou EtOH) é o biocombustível mais utilizado em veículos, podendo ser usado diretamente como combustível ou misturado à gasolina, elevando seu conteúdo de oxigênio e conseqüentemente permitindo uma maior combustão da mesma, além de diminuir a emissão de gases poluentes (WANG et al. 1999; DERMIBAS, 2005).

O etanol pode ser obtido por diversas rotas (Figura 1) conforme o tipo de matérias-primas utilizadas que podem ser classificadas em (SANTOS, 2013):

- **Diretamente fermentescíveis:** São matérias-primas que contém em sua composição substâncias que não precisam de nenhuma transformação para serem absorvidas e transformadas em etanol pelo microrganismo agente (exemplos: cana-de-açúcar, beterraba, sorgo sacarino).

- Indiretamente fermentescíveis: A característica destas matérias-primas é que seus açúcares devem ser desdobrados (hidrolisados) antes de serem absorvidos pelo microrganismo agente da transformação em etanol:
 - ✓ Amiláceas e feculentas: Para que ocorra a fermentação etanólica destas matérias-primas, é necessária a hidrólise prévia que transforma o amido ou a fécula em açúcares fermentescíveis, são exemplos o milho, batata-doce e a mandioca. A hidrólise pode ser química ou enzimática;
 - ✓ Celulósicas: Compostas por celuloses e hemiceluloses, essas matérias-primas precisam de um pré-tratamento a fim de facilitar a hidrólise para açúcares fermentescíveis pelos microrganismos agentes da fermentação etanólica (folhas, casca de frutas, caules de plantas).

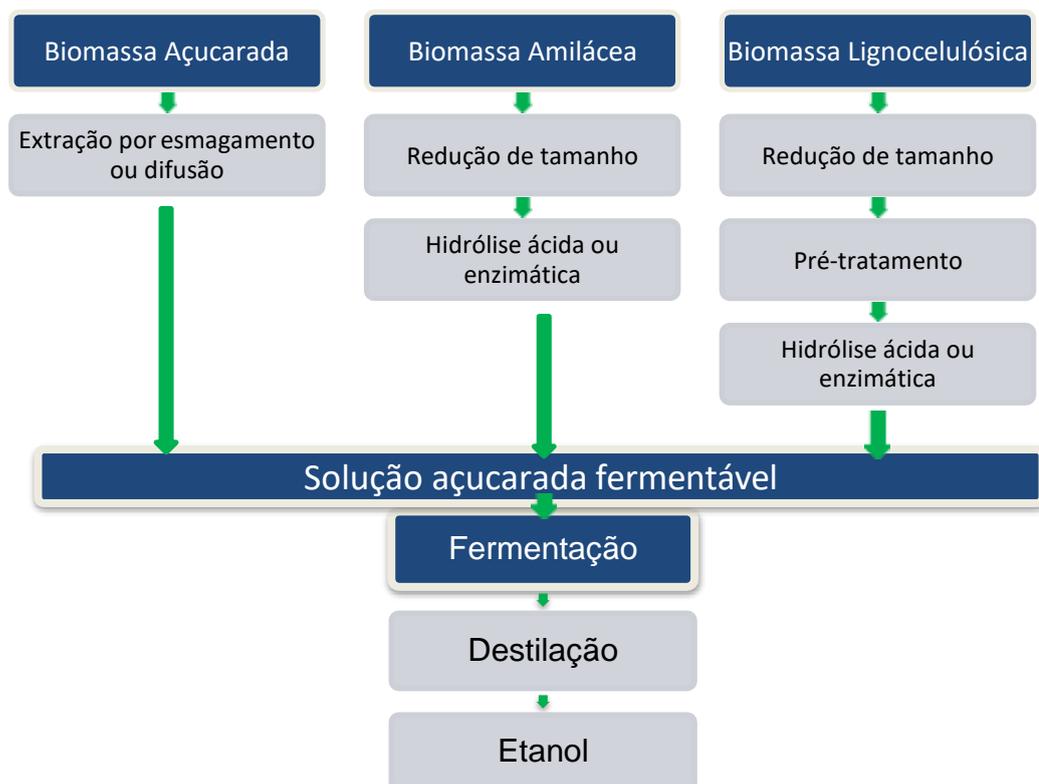


Figura 1: Rotas de obtenção do Etanol
Fonte: Adaptado de BNDES, 2008

3.2.1. Etanol de fontes diretamente fermentescíveis

Dentre as matérias-primas diretamente fermentescíveis tem destaque a cana-de-açúcar que é a principal fonte para a produção de etanol no Brasil. A

tecnologia de produção de etanol usando cana-de-açúcar está consolidada, sendo capaz de atingir balanço energético de 8,2 a 10 bem superior ao etanol de outras fontes vegetais (GOLDEMBERG, 2008).

A beterraba sacarina também é usada com fonte para produção de etanol principalmente nos países pertencentes a União Europeia já que nesses o clima não é ideal para o cultivo de cana-de-açúcar, o rendimento no entanto é bastante inferior ao etanol de cana (FOTEINIS; KOULOUMPIS; TSOUTSOS, 2011; SALAZAR-ORDÓÑEZ; PÉREZ-HERNÁNDEZ; MARTÍN-LOZANO, 2013).

Uma matéria-prima para produção de etanol que vem recebendo destaque nos últimos anos é o sorgo sacarino, por ser uma planta C4 o sorgo sacarino tem uma fotossíntese mais eficiente além de também produzir grãos que podem ser usados na alimentação animal. No entanto o sorgo sacarino ainda não conseguiu alcançar a mesma produtividade da cana-de-açúcar (ALMODARES; HADI, 2009; ROLZ et al., 2014).

3.2.2. Etanol de fontes amiláceas

O amido encontra-se na forma de grânulos formados por dois polímeros de glicose, a amilose, um polissacarídeo essencialmente linear, e a amilopectina, um polissacarídeo altamente ramificado. Os grânulos estão distribuídos em regiões cristalinas e amorfas, alternadas (CASTRO, 2009).

Para produção de etanol de amiláceas pode ser usada a hidrólise ácida que diminui o tempo relativo à sacarificação do amido, porém apresenta uma série de restrições, tais como corrosão de equipamentos, necessidade de correção do pH da solução açucarada, destruição parcial dos açúcares e formação de açúcares não fermentescíveis (MARTINS, 2010).

A hidrólise enzimática atualmente é a mais utilizada, nesse processo o amido é hidrolisado em duas etapas a primeira é chamada de liquefação e libera dextrinas e uma pequena quantidade de glicose a segunda etapa é feita com a enzima glucoamilase e completa a sacarificação do amido (SÁNCHEZ; CARDONA, 2008).

A hidrólise enzimática tem a vantagem de ser realizada em temperaturas mais brandas que a ácida além de não gerar subprodutos indesejáveis (MARTINS, 2010).

Várias fontes de amido podem ser usadas como matérias-primas para produção de etanol como por exemplo o milho, utilizado em grande escala nos Estados unidos, mandioca, arroz, trigo e a batata-doce (LEONEL; CEREDA, 2002).

3.2.2.1. Batata-doce

A batata-doce é uma dicotiledônea da família Convolvulaceae, possivelmente originária das Américas Central e do Sul, embora alguns autores afirmem que essa hortaliça tenha sua origem na Ásia ou África (HACKENHAAR, 2012).

Atualmente os maiores produtores de batata-doce estão na Ásia e África continentes que correspondem a 80% e 17% da produção mundial respectivamente. A China é o maior produtor, concentrado mais de 60% da produção mundial. Ainda que a Ásia seja responsável pela maior parte da produção, a cultura de batata-doce é cultivada em várias partes do globo sendo plantada em 118 países (FAO, 2014).

Se caracteriza por ser uma cultura típica de áreas geográficas de baixa fertilidade, desenvolvendo-se bem em qualquer tipo de solo, desde os francos arenosos até os mais argilosos. Entretanto, consideram-se como ideais os solos mais leves, soltos, permeáveis, bem drenados e com boa aeração. É considerada como tolerante à acidez do solo, podendo crescer e produzir bem em solos com pH entre 4,4 a 7,7, sendo o intervalo ideal entre 5,6 e 6,2 (SILVEIRA et. al., 2008)

Excesso de umidade nos estágios iniciais de formação das raízes tuberosas pode inibir o processo de tuberização, e pode, em estágios mais avançados, promover podridões de raízes (MALUF, 2014).

Ainda pouco utilizada para esta finalidade, a batata-doce talvez seja uma das espécies vegetais que podem apresentar os melhores resultados para a produção de etanol no Brasil, já que tem mais alto rendimento de amido por terra cultivada do que os grãos (DUVERNAY et al., 2013; FERRARI; GUIGOU; LAREO, 2013; GONÇALVES NETO et al., 2012).

Utilizando batata-doce industrial, experimentos feitos na Universidade Federal do Tocantins chegaram a obter rendimentos de etanol variando entre

17.354 e 20.007 litros por hectare. Valores significativos quando comparado aos obtidos pela cana-de-açúcar (PAVLAK et al., 2011).

Além disso, a batata-doce pode produzir álcool com melhores propriedades químicas, produto de alto valor agregado, destinado à fabricação de cosmético, tintas e remédios (CASTRO et al., 2008).

3.2.3. Etanol Lignocelulósico

Para que a produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos seja possível é necessária uma etapa para ruptura da estrutura da matriz do material fibroso (Figura 2) e liberação dos açúcares fermentescíveis (MILESSE, 2012).

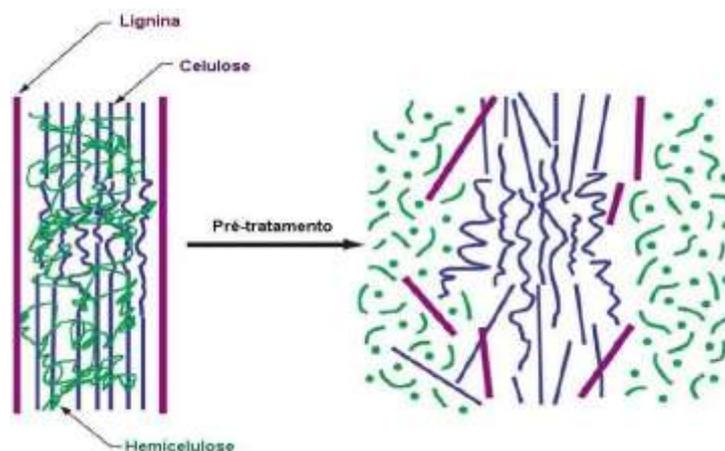


Figura 2: Efeito do pré-tratamento na estrutura lignocelulósica
Fonte: SILVA, 2009

Com a hidrólise das estruturas de celulose e hemicelulose a açúcares mais simples, pode então ser realizada a etapa de fermentação na qual pode se utilizar uma grande variedade de microrganismos embora na literatura científica tenham destacados espécies como *Saccharomyces cerevisiae* e *Zymomonas mobilis* para a fermentação de glicose e *Scheffersomyces (Pichia) stipitis* e *Candidas hehatae* para fermentação de xilose (LEMOS; STRADIOTTO, 2012; MILESSE, 2012; FERREIRA, 2010; DUSSÁN, 2013).

3.3. Materiais lignocelulósicos

Os materiais lignocelulósicos compreendem os resíduos agroindustriais e florestais, tais como bagaços, palhas e cavacos de madeiras, e sua composição varia de acordo com a espécie (MARTINIANO, 2013).

São fontes abundantes de compostos orgânicos, apresentam grande potencial como matéria-prima em processos industriais para produção de alimentos, combustível, insumos químicos, enzimas e bens de consumo diversos (LATIF; RAJOKA, 2001)

Seu não aproveitamento, além de possuir impacto ambiental por ocasionar problemas de poluição, representa perda de recursos, uma vez que poderiam ser aproveitados na geração de produtos de interesse à sociedade (CANILHA et al., 2009; CORTEZ, 2010).

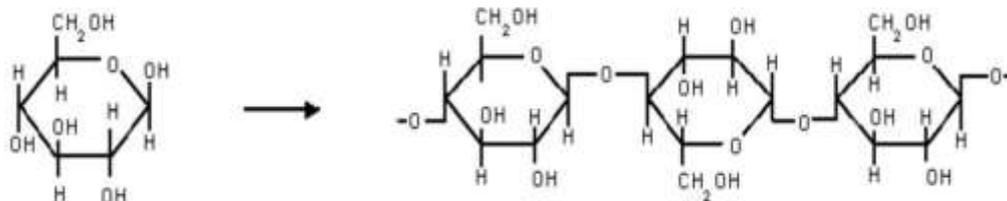
Esta biomassa é constituída basicamente por celulose, hemicelulose, lignina e em menores proporções os extrativos como as graxas, gomas, amidos, alcalóides, resinas, óleos essenciais e outros constituintes citoplasmáticos; e os não extrativos que incluem compostos como sílica, carbonatos e oxalatos (LYND et al., 2005).

3.3.1. Celulose

Celulose é um polímero composto de uma cadeia linear de centenas a milhares de unidades de glicose (Figura 3) ligadas por ligações β (1 \rightarrow 4). As cadeias de celulose estão associadas formando fibrilas. Essas fibrilas apresentam-se na forma de cabos e são insolúveis em água e na maior parte dos solventes orgânicos. (HAGHIGHI MOOD et al., 2013; MOHNEN; BAR-PELED; SOMERVILLE, 2009)

A biomassa das plantas contém de 40 a 50 % de molécula de celulose que estão rigidamente unidas por ligações de hidrogênio. Devido a essas ligações e ao arranjo em fibrilas a celulose natural tem uma estrutura compacta denominada cristalina, e também uma estrutura amorfa a qual pode ser mais facilmente hidrolisada por enzimas (ANWAR; GULFRAZ; IRSHAD, 2014 ; ZHAO; ZHANG; LIU, 2012).

Figura 3: Subunidade (glucose) e fórmula estrutural da cellulose

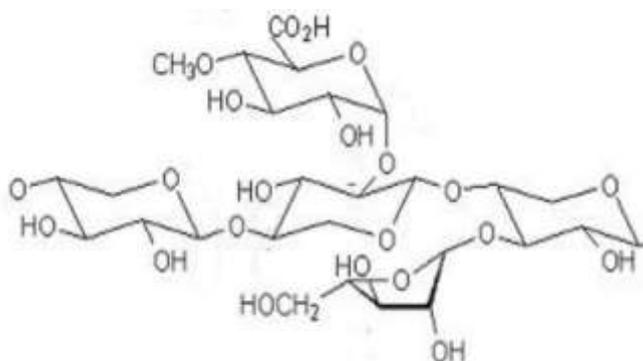


Fonte: ROSA; GARCIA (2003)

3.3.2. Hemicelulose

A hemicelulose é um polímero heterogêneo que tem sua estrutura principal formada por glucuronoxilanas e glucomananas (Figura 4). Ao contrário da celulose, a composição da hemicelulose varia dependendo do tecido celular e da espécie da planta e se diferencia em relação ao tipo de ligação glicosídica, composição da cadeia lateral e grau de polimerização (HAGHIGHI MOOD et al., 2013; ZHAO; ZHANG; LIU, 2012)

Figura 4: Arranjo de pentoses formando a estrutura molecular da hemicelulose



Fonte: ROSA; GARCIA (2003).

Em geral as biomassas folhosas são compostas principalmente por heteroxilanas altamente acetiladas já as madeiras de coníferas apresentam uma elevada proporção de glucomananas e galactoglucomananas parcialmente acetiladas (CARVALHO et al., 2010; RAMOS, 2003).

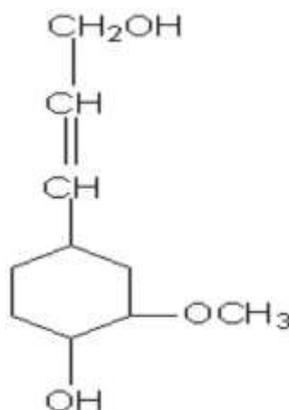
Arabinanas e arabino-galactana estão presentes também na hemicelulose embora elas não compartilhem a ligação β (1 \rightarrow 4) da estrutura principal. Normalmente biomassas vegetais contêm de 25% a 35% de hemicelulose com peso molecular médio menor que 30.000u. Esse baixo peso molecular associado a

estrutura ramificada com cadeias curtas tornam a hemicelulose facilmente hidrolisável (ANWAR; GULFRAZ; IRSHAD, 2014; HAGHIGHI MOOD et al., 2013)

3.3.3. Lignina

Dentre os principais componentes das fibras vegetais a lignina é a mais complexa e a que está presente em menor quantidade. Caracteriza-se por ser um polímero aromático sintetizado com base em fenilpropanóides (Figura 5). A maioria das unidades de fenilpropanos da lignina são formadas por sinrigil, guaiacil e p-hidróxi fenóis unidos por um conjunto de ligações formando uma matriz complexa.

Figura 5: Estrutura molecular de uma subunidade da lignina.



Fonte: ROSA; GARCIA (2003).

A lignina age com uma cola preenchendo os espaços entre celulose e hemicelulose (ANWAR; GULFRAZ; IRSHAD, 2014; HAGHIGHI MOOD et al., 2013). As ligninas de madeiras de coníferas são compostas quase que exclusivamente por unidades guaiacil, sendo denominadas de ligninas tipo G, as ligninas de madeiras de folhosas são mais ricas em unidades siringil, sendo denominadas de ligninas tipo GS (CARVALHO et al., 2009).

3.4. Pré-tratamentos

Pré-tratamento é uma etapa muito importante no processo de produção de biocombustíveis de segunda geração. O principal objetivo do pré-tratamento é solubilizar ou separar um ou mais componentes da biomassa fazendo com que o sólido resultante seja mais acessível para um tratamento adicional quer seja esse químico ou biológico (SARKAR et al., 2012).

Sem o pré-tratamento a hidrólise biológica da celulose na sua forma natural não só consumiria grande quantidade de enzimas como também diminuiria o rendimento do processo (HAGHIGHI MOOD et al., 2013).

Os requisitos de um pré-tratamento ideal devem ter características tais como aumentar a fração celulose amorfa que é mais sensível ao ataque enzimático, evitar a formação de inibidores para a hidrólise enzimática e a fermentação, ter baixa demanda energética, ter baixo custo para produção de reatores de pré-tratamento, produzir poucos resíduos, usar poucos reagentes ou reagentes de baixo valor (BALAT, 2011; GALBE; ZACCHI, 2012).

Em geral os pré-tratamentos são classificados em físico, químicos, físico-químicos e biológicos, os pré-tratamentos mais utilizados serão expostos com mais detalhes a seguir (ANWAR; GULFRAZ; IRSHAD, 2014).

3.4.1. Líquido iônico

Líquido iônico consiste de sais fundidos a temperatura ambiente formado por cátions e ânions orgânicos. Líquidos iônicos possuem boa ação solvente, baixa volatilidade, estabilidade química e baixo ponto de fusão tornando-os aplicáveis a diversos processos (XIAO et al., 2012).

Líquidos iônicos têm mostrado grande potencial no pré-tratamento de materiais lignocelulósicos sendo capazes de solubilizar celulose, ligninas e hemicelulose (GALBE; ZACCHI, 2012; HAGHIGHI MOOD et al., 2013)

Embora tenha várias vantagens ainda há pouca tecnologia no que tange a recuperação dos líquidos iônicos dos processos. Apesar de não se ter evidências que eles possam inibir a fermentação, o grande fator negativo é que líquidos iônicos ainda têm um custo alto (GALBE; ZACCHI, 2012).

3.4.2. Organosolv

Pré-tratamento por solvente orgânico ou organosolv é o um método alternativo para fazer a deslignificação de materiais lignocelulósicos (SARKAR et al., 2012). O Organosolv se baseia na premissa que a lignina é solúvel em alguns solventes orgânicos. Os solventes utilizados podem ser metanol, etanol, acetona entre outros. O pré-tratamento pode ser aplicado com ou sem catalisador (em geral um ácido mineral) a fim de melhorar os resultados (GALBE; ZACCHI, 2012; SARKAR et al., 2012).

O solvente age quebrando as ligações de lignina e hemicelulose, geralmente liberando lignina com alto grau de pureza a qual pode ser utilizada em outras aplicações. Além disso, com remoção da lignina há um aumento da área superficial do material melhorando a hidrólise enzimática (HAGHIGHI MOOD et al., 2013).

Entres as principais desvantagens desse processo estão a volatilidade e inflamabilidade dos solventes utilizados. Para que o processo seja viável é necessário a recuperação dos solventes, o que evita também a inibição nas etapas posteriores de hidrólise e fermentação (GALBE; ZACCHI, 2012).

3.4.3. Alcalino

O pré-tratamento alcalino tem como principal característica ser conduzido em baixa temperatura e pressão ao contrário da maior parte dos outros pré-tratamentos, entretanto o tempo do processo pode ser de horas ou mesmo dias (MOSIER et al., 2005).

O pré-tratamento alcalino causa diversas transformações na estrutura dos materiais lignocelulósicos, tais como quebra da barreira de lignina, descristalização da celulose e solvatação da hemicelulose, também hidrolisa vários ácidos urônicos e estéres que são prejudiciais a hidrólise enzimática (ANWAR; GULFRAZ; IRSHAD, 2014; SARKAR et al., 2012).

As bases mais utilizadas são hidróxidos de sódio e hidróxido de potássio, embora essas podem se combinar permanentemente com os materiais lignocelulósicos formando sais aumentando o custo do processo. Uma alternativa é o hidróxido de cálcio, este possui um custo relativamente menor que os outros e ainda pode ser recuperado utilizando CO₂ (BALAT, 2011).

De acordo com suas características o pré-tratamento alcalino tem sido relatado como o mais eficiente a ser usado em resíduos de agricultura e culturas herbáceas, considerando que nesses o teor de lignina é menor, e por consequência a ação na celulose é maior, melhorando a hidrólise enzimática (GALBE; ZACCHI, 2012).

3.4.4. Ácido diluído

O pré-tratamento com ácido é considerado uma das técnicas mais importantes quando se deseja obter alto rendimento de açúcares de materiais lignocelulósicos. Esse pré-tratamento é geralmente realizado usando ácidos minerais diluídos com concentrações que variam de 0,2 a 2,5% (m/m) em temperaturas que variam de 130 a 210°C (SARKAR et al., 2012).

O ácido sulfúrico é o mais empregado nesse tipo de pré-tratamento hidrolisando polissacarídeos a monossacarídeos, aumentando a acessibilidade da celulose para a hidrólise enzimática (HAGHIGHI MOOD et al., 2013).

O tempo de reação pode variar de minutos a horas, nesse tempo o ácido age indiscriminadamente nas cadeias poliméricas de carboidratos. O resultado é uma mistura complexa de vários compostos, dentre estes alguns tóxicos aos microrganismos fermentadores (GALBE; ZACCHI, 2012).

Na aplicação do pré-tratamento com ácido diluído um importante dado a se considerar é o fator combinado de severidade (FCS). Este valor que combina dados de temperatura, tempo e concentração de ácido utilizados em um processo.

Assumindo que a reação de degradação de materiais lignocelulósicos é de primeira ordem o fator de severidade foi definido por Overend and Chornet, (1987), conforme equação a seguir:

$$R_0 = t * \exp^{[(T_H - T_R)/14,75]} \quad (1)$$

Onde t é o tempo de reação em minutos, T_H é a temperatura de hidrólise em ° C, e T_R é a temperatura de referência, a qual normalmente é 100°C.

Está equação foi modificada por Chum et al. (1990) para incluir o efeito da concentração de ácido se transformando no atual fator combinado de severidade que é descrito pela equação 2:

$$\text{Log CS} = \text{logR}_0\text{-pH} \quad (2)$$

As desvantagens do pré-tratamento ácido são: gastos com reatores resistentes a corrosão; necessidade de neutralização do hidrolisado antes da fermentação; formação de inibidores do processo fermentativo; necessidade de descarte correto dos sais formados na neutralização; etapa de redução de tamanho das partículas da biomassa antes do pré-tratamento a ser aplicado (BALAT, 2011).

3.4.5. Hidrotérmico

O pré-tratamento hidrotérmico usa alta pressão para manter a água líquida em temperaturas que podem variar de 200° a 230° C. Esse tratamento pode solubilizar de 40% a 60% da biomassa total, tem melhor efeito na hemicelulose que pode ser completamente removida (MOSIER et al., 2005).

Esse pré-tratamento libera pequenas quantidades de compostos indesejáveis como furfural e ácidos carboxílicos capazes de inibir o crescimento microbiano prejudicando a fermentação (SARKAR et al., 2012).

Outra desvantagem do método é que os açúcares liberados pela hidrólise da hemicelulose ficam altamente diluídos no meio, o que pode diminuir a eficiência do processo fermentativo, sendo necessária a concentração destes (GALBE; ZACCHI, 2012).

O principal fator a favor da viabilidade econômica deste método é que ele não usa nenhum composto químico tóxico e gera poucos resíduos (SARKAR et al., 2012).

3.4.6. Explosão de vapor

No pré-tratamento por explosão de vapor a biomassa é aquecida em temperaturas que variam de 160 a 290°C a pressões que vão de 20 a 60 bar por

alguns minutos, o processo finaliza com um rápida descompressão para pressão ambiente (SARKAR et al., 2012).

A maior parte das modificações provocadas pelo método de explosão de vapor pode ser atribuída a remoção quase que completa da hemicelulose. Dessa forma há um aumento da acessibilidade das enzimas a celulose, além da redução de tamanho das partículas e aumento dos poros provocados pela descompressão (MOSIER et al., 2005).

O método é às vezes chamado de auto hidrólise, pois provoca a decomposição de hemicelulose podendo formar ácidos como fórmico, acético e levulínico, os quais podem servir como catalisadores e ao mesmo tempo degradar açúcares a furfural e hidróxi-metil-furfural (HMF) (HAGHIGHI MOOD et al., 2013).

Vale ressaltar que ao contrário do pré-tratamento hidrotérmico a explosão de vapor não provoca a diluição excessiva dos açúcares, além de ter as mesmas características de redução de tamanho das partículas (BALAT, 2011; MOSIER et al., 2005).

3.4.7. Explosão de fibra com amônia (AFEX) e Explosão com CO₂

O pré-tratamento AFEX ocorre aquecendo amônia líquida junto ao material lignocelulósico a temperaturas que variam de 60 a 100°C e sob alta pressão, finalizando com rápida descompressão, semelhante ao que ocorre no pré-tratamento por explosão de vapor (BALAT, 2011).

Nesse processo a rápida expansão da amônia provoca o rompimento das ligações da lignina aumentando a digestibilidade da biomassa em relação ao tratamento enzimático (HAGHIGHI MOOD et al., 2013). O processo também não libera nenhum açúcar fermentescível diretamente, além de ser conduzido em temperaturas moderadas o que contribui para não formação de inibidores (BALAT, 2011; SARKAR et al., 2012).

Este pré-tratamento tem a desvantagem de ser menos eficiente em biomassas com alto conteúdo de lignina, além de causar a solubilização apenas de uma pequena porção do material (SARKAR et al., 2012).

Outra desvantagem do método é que a amônia tem muita toxicidade e necessita ser recuperada com boa eficiência para que o processo seja economicamente viável (GALBE; ZACCHI, 2012).

O pré-tratamento de explosão com CO₂ tem ação semelhante ao AFEX, embora o CO₂ tenha como vantagem o custo bem menor em relação, além da recuperação fácil por despressurização. Como desvantagem pode se destacar a formação de ácido carbônico durante o processo, capaz de corroer os equipamentos (HAGHIGHI MOOD et al., 2013).

3.4.8. Oxidação úmida

Na oxidação, a biomassa é tratada com água mais ar ou oxigênio em temperaturas superiores a 120°C. Esse tratamento libera mas não hidrolisa completamente a hemicelulose, gerando carboidratos oligômeros (SARKAR et al., 2012).

Oxidação úmida é preferencialmente aplicável para biomassa com conteúdo baixo de lignina já que no processo a lignina é solubilizada não podendo ser usada como combustível sólido (co-geração), prejudicando a produção de etanol em larga escala (GALBE; ZACCHI, 2012).

A oxidação úmida tem a grande vantagem de produzir poucos inibidores, mas sua aplicação é seriamente comprometida devido aos custos dos equipamentos pressurizados e do oxigênio (HAGHIGHI MOOD et al., 2013).

3.4.9. Ozonólise

A ozonólise emprega o gás ozônio para quebrar a lignina e a hemicelulose e aumentar a degradabilidade da celulose. Esse pré-tratamento é geralmente conduzido em temperatura ambiente, e é bastante eficiente na remoção da lignina sem a formação de compostos tóxicos (BALAT, 2011) .

Por ser feito a temperatura ambiente o processo tem baixo gasto energético, no entanto a principal desvantagem é a grande quantidade de ozônio utilizada o que eleva significativamente o custo final (HAGHIGHI MOOD et al., 2013).

3.4.10. Biológico

O pré-tratamento pode ser feito utilizando tanto enzimas como microrganismos. O pré-tratamento usando microrganismos geralmente emprega fungos da podridão mole e branca entretanto fungos da podridão marrom podem ser usados (GALBE; ZACCHI, 2012; SARKAR et al., 2012).

Fungos da podridão mole e branca degradam a lignina da biomassa liberando dessa forma mais celulose melhorando a ação das enzimas. Apesar do baixo consumo energético do processo que é conduzido a temperatura ambiente e do pouco investimento necessários para os reatores, o pré-tratamento biológico encontra dificuldade para aplicação em larga escala (ANWAR; GULFRAZ; IRSHAD, 2014).

Pré-tratamento por rota biológica tem como desvantagem apresentar um tempo de reação maior que os demais pré-tratamentos, além de exigir muito espaço e monitoramento contínuo do crescimento dos microrganismos (HAGHIGHI MOOD et al., 2013).

Vários métodos de pré-tratamentos têm sido propostos na literatura, todos com o propósito de desagregar a estrutura associativa lignocelulósica para produzir combustíveis renováveis ou insumos químicos a partir da biomassa lignocelulósica (Gámez et al., 2006, Laser et al., 2002; Cunha et al., 2001). A Tabela 1 apresenta

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Obtenção da matéria-prima

Neste experimento foram utilizadas ramas de batata-doce industrial cultivar Duda, catalogada como BDI-112. As ramas foram cedidas pelo Laboratório de Sistemas de Produção de Energia a partir de Fontes Renováveis (LASPER), localizado na Estação Experimental/UFT.

O experimento foi realizado conforme descrito no fluxograma abaixo.

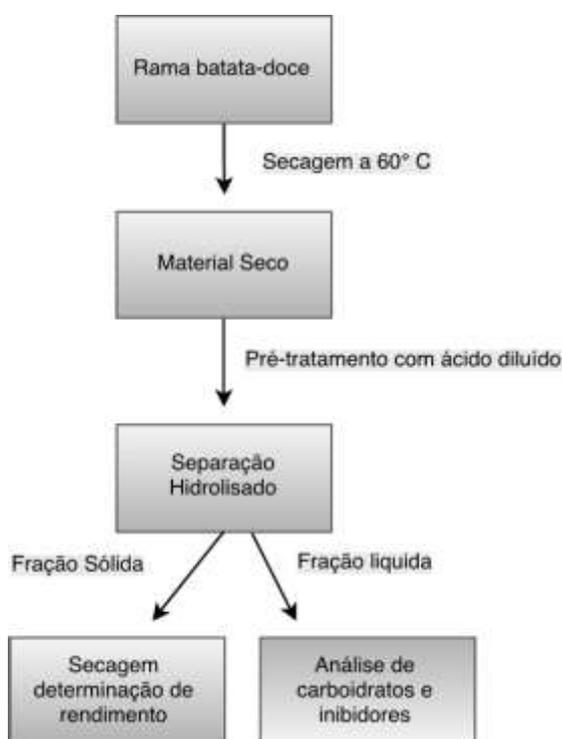


Figura 6: Fluxograma pré-tratamento ramas da batata-doce

4.2. Preparo da matéria-prima

Após a coleta, as ramas foram lavadas, em seguida procedeu-se com a secagem das mesmas em estufa com circulação de ar a 60°C por 48 horas. Após a secagem, a matéria-prima foi triturada em moinho de facas com telas de 30 mesh,

modelo Star FT 50, marca Fortinox, e armazenada em frascos de vidro hermeticamente fechados até a realização do experimento.

4.3. Pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído

As ramas foram submetidas ao pré-tratamento químico com ácido sulfúrico diluído. Os ensaios foram realizados em frascos reagentes de 250 ml aquecidos em estufa e autoclave, depois resfriados em banho gelado para encerrar a reação. Nesse experimento foram avaliados os efeitos dos fatores temperatura, tempo de reação, carga de sólidos, e concentração de ácido sulfúrico. Para isso foi utilizado um delineamento composto central com duas repetições na parte fatorial e quatro repetições no ponto central. O delineamento completo é mostrado na Tabela 2.

As respostas usadas para o delineamento experimental foram a concentração de glicose, xilose, arabinose, furfural e HMF no hidrolisado.

Tabela 1: Variáveis do planejamento composto central

Ensaio	FCS	Temperatura (°C)	Tempo (Minutos)	Carga de Sólidos (%)	Concentração Ácido (%m/m)
1	-0,383	75	45	4	4
2	-0,633	75	45	8	2
3	-0,411	75	75	4	2
4	-0,161	75	75	8	4
5	-0,633	75	45	4	2
6	-0,383	75	45	8	4
7	-0,161	75	75	4	4
8	-0,411	75	75	8	2
9	-0,383	75	45	4	4
10	-0,633	75	45	8	2
11	-0,411	75	75	4	2
12	-0,161	75	75	8	4
13	-0,633	75	45	4	2
14	-0,383	75	45	8	4
15	-0,161	75	75	4	4
16	-0,411	75	75	8	2

Tabela 2: Variáveis do planejamento composto central (continuação)

Ensaio	FCS	Temperatura (°C)	Tempo (Minutos)	Carga de Sólidos (%)	Concentração Ácido (%m/m)
17	0,250	105	45	4	2
18	0,500	105	45	8	4
19	0,722	105	75	4	4
20	0,472	105	75	8	2
21	0,500	105	45	4	4
22	0,250	105	45	8	2
23	0,472	105	75	4	2
24	0,722	105	75	8	4
25	0,500	105	45	4	4
26	0,250	105	45	8	2
27	0,472	105	75	4	2
28	0,722	105	75	8	4
29	0,250	105	45	4	2
30	0,500	105	45	8	4
31	0,722	105	75	4	4
32	0,472	105	75	8	2
33	-0,800	60	60	6	3
34	0,967	120	60	6	3
35	-0,217	90	30	6	3
36	0,260	90	90	6	3
37	0,084	90	60	2	3
38	0,084	90	60	10	3
39	-0,366	90	60	6	1
40	0,284	90	60	6	5
41-44	0,084	90	60	6	3

As cargas de sólidos utilizadas neste experimento foram menores que 10%, pois testes preliminares revelaram que devido as características higroscópicas e a densidade do material empregado carga de sólidos superiores a este valor dificultavam a extração do licor do meio reacional.

As médias de ensaios com o mesmo fator combinado de severidade (FCS) também foram utilizadas para calcular a eficiência do pré-tratamento baseado no rendimento dos monômeros e concentração de inibidores em função do respectivo fator combinado de severidade.

4.4. Separação do hidrolisado

Após resfriado, o hidrolisado foi fracionado em peneiras com malha n° 450, a fração líquida (licor) foi armazenada em frascos âmbar de 30 ml e refrigerada a 4°C até serem realizadas as análises. A parte sólida foi neutralizada, adicionada em béquer previamente pesado, posta para secagem em estufa a 105°C por 24 horas, após a secagem completa os béqueres foram pesados para analisar o rendimento da reação.

4.5. Determinações analíticas

A determinação de cinzas, lignina solúvel e insolúvel, açúcares e inibidores, na matéria-prima e no hidrolisado foram feitas em duplicata utilizando a metodologia proposta por SLUITER *et al.* (2008).

4.5.1. Determinação de cinzas

A determinação de cinza foi feita pesando um grama da biomassa em cadinhos de porcelana previamente calcinados e tarados. A amostra foi então aquecida em forno mufla a 300°C por uma hora, posteriormente a temperatura foi elevada para 550°C e permaneceu neste valor por 3 horas. Após este período o cadinho foi resfriado em dessecador, sendo em seguida realizado a pesagem e posterior cálculo do conteúdo de cinzas na biomassa.

4.5.2. Caracterização da matéria-prima

A caracterização das ramas de batata-doce foi feita com uma hidrólise em duas etapas, primeiramente foram pesados 0,3 gramas de ramas de batata-doce em tubos de ensaio, depois adicionados à esta amostra 3 ml de ácido sulfúrico com concentração de 72%. Os tubos foram então aquecidos em banho-maria a 30°C por 1 hora. Após isto o conteúdo do tubo de ensaio foi transferido para um frasco reagente e aquecido em autoclave a 120°C por uma hora. Depois desta hidrólise o conteúdo do frasco foi filtrado em papel filtro qualitativo previamente tarado, uma alíquota do filtrado foi retirada para análise de carboidratos, inibidores e lignina solúvel. O resíduo que permaneceu no filtro foi neutralizado com lavagens sucessivas usando 3 litros água deionizada, após neutralizado o filtro foi seco em

estufa a 105°C e posteriormente pesado. O conteúdo de lignina insolúvel foi calculado pela diferença entre o peso do resíduo insolúvel que permaneceu no papel filtro e o conteúdo de cinzas da biomassa.

4.5.3. Caracterização do hidrolisado

Primeiramente foi medido o pH de todas amostra. Em seguida uma alíquota de 5 ml de cada amostra foi pipetada em duplicata em tubos de ensaio autoclaváveis. Nesses tubos, com base no pH previamente medido, foi adicionado ácido sulfúrico com concentração de 72% com o objetivo de padronizar a concentração de ácido sulfúrico no hidrolisado para 4%.

As amostras foram autoclavadas a 121°C por uma hora, então resfriadas em banho de gelo, em seguida as amostras foram filtradas em membrana Millipore® de 0,22 µm e por meio desse filtrado foram feitas análises de lignina solúvel, carboidratos, HMF e furfural.

4.5.4. Lignina Solúvel

Para se obter o teor de lignina solúvel foi recolhida uma amostra de 100 µl do hidrolisado do licor e adicionada a um balão volumétrico de 50 ml completando o volume com água deionizada, foi então feita a medida em um espectrofotômetro UV-visível HACH modelo DR 5000 na absorbância de 280 nm. A porcentagem de lignina foi calculada conforme a equação 3, 4, 5.

$$C_{\text{lignina solúvel}} = ((41,87 \times (A_r - A_{PD}) - 0,3279) \times 10^{-3}) \quad (3)$$

$$A_{PD} = C_1 \varepsilon_1 + C_2 \varepsilon_2 \quad (4)$$

$$\% \text{lignina solúvel} = \left(\frac{C_{\text{lignina solúvel}} \times V_{\text{filtrado}} \times FD}{M_1} \right) \times 100 \quad (5)$$

Onde:

A_T é a absorvância da solução de lignina junto com os produtos de degradação a 280 nm; A_{PD} é a absorvância, a 280 nm, dos produtos de decomposição dos açúcares (furfural e HMF) calculado através da equação 4, cujas concentrações C_1 e C_2 foram determinadas via CLAE e ϵ_1 e ϵ_2 são as absortividades de furfural e HMF (146,85 e 114 g/l); $C_{\text{lignina solúvel}}$ é a concentração de lignina solúvel obtido através da equação 3 em g/l; V_{filtrado} é o volume do hidrolisado filtrado; FD é o fator de diluição para leitura de absorvância; M_1 é a massa das ramas utilizadas na caracterização descontando o teor de umidade.

4.5.5. Carboidratos e ácido acético

A análise cromatográfica dos carboidratos e do ácido acético foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência marca Shimadzu (LC-10Series Avp; degaseificador: DGU-14A, integrador: CLASS LC-10), com eluição isocrática, pelo bombeamento (LC-10AD) de uma fase móvel composta de 5mM de ácido sulfúrico em água ultrapura (destilada e deionizada). O fluxo do eluente foi de 0,6 mL/min, a 30°C (forno de coluna CTO-10A), com corrida de tempo total de 20 minutos. A detecção se deu em detector de índice de refração (Shimadzu, modelo RID-10A). Uma alíquota de 20,0 μ l da amostra foi injetada manualmente (injetor Rheodyne - iL malha 20) e permeada por uma coluna Phenomenex Rezex ROA-OrganicAcid H+ (300 x 7,8 mm) com conexão direta a Cartucho de segurança Phenomenex Carbo-H (4 x 3 mm) preenchida com material semelhante ao da coluna principal. Padrões mostrados na Tabela 3 utilizados para construção da curva de calibração, que forneceu uma equação, utilizada para calcular a concentração.

Tabela 2: Padrões de carboidratos

Padrões	Fabricante	Pureza
Arabinose	Sigma-Aldrich	$\geq 99\%$
Celobiose	Sigma-Aldrich	$\geq 98\%$
Glicose	Sigma-Aldrich	$\geq 99\%$
Xilose	Sigma-Aldrich	$\geq 99\%$
Ácido acético	Sigma-Aldrich	$\geq 87\%$

4.5.6. HMF e Furfural

A determinação dos HMF e furfural foi feita utilizando coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm) e pré-coluna Phenomenex C18 (4 x 3,0 mm) preenchida com material semelhante a coluna principal. O fluxo do eluente foi de 1mL/min, a 30°C, com corrida de tempo total de 15 minutos. A eluição foi isocrática com uma solução de acetonitrila/água (1:8 com 1% de ácido acético) o detector foi UV (SPD-10A) com comprimento de onda a 276 nm. As concentrações destes compostos foram calculadas a partir de curvas de calibração obtidas de soluções padrão mostradas na Tabela 4.

Tabela 3: Padrões de inibidores

Padrões	Fabricante	Pureza
HMF	Sigma-Aldrich	≥ 99%
Furfural	Sigma-Aldrich	≥ 98%

4.5.7. Cálculo das frações de polissacarídeos na rama de batata-doce

Para o cálculo do conteúdo de polissacarídeos na matéria-prima foram utilizadas as concentrações de monômeros e inibidores provenientes da determinação em CLAE e da determinação de lignina solúvel e insolúvel conforme equações abaixo:

$$C_{\text{celulose}} = 0,95 * C_{\text{Celobiose}} + 0,90 * C_{\text{glicose}} + 1,29 * C_{\text{HMF}} \quad (6)$$

$$C_{\text{hemicelulose}} = 0,88 * C_{\text{xilose}} + 0,88 * C_{\text{Arabinose}} + 1,38 * C_{\text{Furfural}} + 0,70 * C_{\text{Ácido Acético}} \quad (7)$$

$$C_{\text{lignina}} = C_{\text{lignina solúvel}} + C_{\text{lignina insolúvel}} \quad (8)$$

4.6. Metodologia para otimização do processo

Para otimização do pré-tratamento da batata-doce foi utilizado o programa Design Expert 10, e aplicado a técnica da função desejabilidade, popularizada por

Derringer e Suich (1980). Nessa técnica primeiramente se converte cada resposta (y_i) em valor individual d_i que varia conforme intervalo mostrado na equação 9.

$$0 \leq d_i \leq 1 \quad (9)$$

Se a resposta (y_i) for igual a valor alvo (T), então d_i será igual a 1, caso a resposta esteja fora do intervalo definido d_i será igual a 0. Dessa forma as variáveis são escolhidas para maximizar a desejabilidade geral (D) conforme equação abaixo, sendo n o número de respostas:

$$D = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_n)^{1/n} \quad (10)$$

Como espera-se otimizar o processo para maior obtenção de glicose, xilose e arabinose utilizou-se a função de desejabilidade individual conforme equação 11 para estes açúcares:

$$d = \begin{cases} 0 & y < L \\ \left(\frac{y-L}{T-L}\right)^r & L \leq y \leq T \\ 1 & y > T \end{cases} \quad (11)$$

Esta função tem como resultado 0 (y) se a resposta for menor que o valor limite (L), e 1 se a resposta foi maior ou igual ao maior valor.

Para otimizar a concentração de inibidores, a qual se espera ter o menor valor possível, foi aplicada a equação 12:

$$d = \begin{cases} 1 & y < T \\ \left(\frac{U-y}{U-T}\right)^r & T \leq y \leq U \\ 0 & y > U \end{cases} \quad (12)$$

Esta equação funciona de forma oposta a equação 11 tendo como resultado 0 quando a resposta ultrapassa o limite superior (U) e 1 quando a resposta é igual ou menor ao limite inferior.

Para os fatores o cálculo usado é mostrado na equação 13, nessa equação d_i é igual a 0 quando os valores do limite inferior e superior são ultrapassados. O

software Design Expert não considera o valor di dos componentes que aplicam essa equação no cálculo da desejabilidade geral.

$$d = \begin{cases} 0 & y < L \\ \left(\frac{y-L}{T-L}\right)^{r_1} & L \leq y \leq T \\ \left(\frac{U-y}{U-T}\right)^{r_2} & T \leq y \leq U \\ 0 & y > U \end{cases} \quad (13)$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização da matéria-prima

A Tabela 5 mostra o conteúdo de polissacarídeos das ramas de batata-doce comparadas a outros tipos de biomassa.

Tabela 4: Resultado caracterização ramas batata-doce

	Rama Batata- doce	Sorgo (AKANKS HA et al., 2014)	Bagaço de cana- de-açúcar (TIMUNG et al., 2015)	Palha de milho (CHENG; TIMILSINA, 2010)
Celulose	46,48%	39,57%	40,15%	35% a 40%
Hemicelulose	19,28%	13,63%	22,78%	17% a 35%
Lignina	19,16%	20,63%	20,81%	7% a 18%
Cinzas	6,88%	26,30%		
Extrativos/outros	8,22%			

A Tabela 5 mostra que a rama de batata-doce em relação a sua composição apresenta bom potencial para produção de etanol lignocelulósico, ela tem conteúdo de celulose ligeiramente maior que outras biomassas, além de possuir também um conteúdo mais baixo de hemicelulose e lignina que representa uma boa característica para os materiais destinados a produção de etanol de segunda geração, pois esses dois polissacarídeos diminuem a digestibilidade da celulose em relação as celulasas.

5.2. Impacto do fator combinado de severidade

A Tabela 6 mostra um resumo dos dados obtidos considerando o fator combinado de severidade dos ensaios e os respectivos rendimentos de glicose, xilose e arabinose e a concentração de furfural e HMF da amostra e a formação de inibidores.

Tabela 5: Efeitos do FCS no rendimento de carboidratos e inibidores.

Temperatura (° C)	Tempo (min)	Conc. Ácido (%)	FCS	Glicose (%)	Xilose (%)	Arabinose (%)	HMF (g/l)	Furfural (g/l)
75	45	4	-0,38	20,21	39,75	84,32	0,09	0,084
75	45	2	-0,63	19,67	36,53	77,74	0,17	0,062
75	75	2	-0,41	19,80	40,93	83,36	0,23	0,067
75	75	4	-0,16	22,08	22,08	89,90	0,12	0,245
105	45	2	0,25	29,84	29,84	100,00	0,32	0,33
105	45	4	0,50	28,3	28,31	75,90	0,22	0,31
105	75	4	0,72	35,95	35,95	100,0	0,21	0,40
105	75	2	0,47	30,17	30,17	75,29	0,37	0,34
60	60	3	-0,80	17,44	33,12	74,01	0,10	0,08
120	60	3	0,97	38,46	63,00	100,0	0,47	0,18
90	30	3	-0,22	18,13	32,11	72,27	0,10	0,08
90	90	3	0,26	32,16	56,10	99,14	0,13	0,13
90	60	1	-0,37	20,03	35,49	75,93	0,31	0,06
90	60	5	0,28	30,57	56,53	96,91	0,17	0,13
90	60	3	0,08	29,83	53,03	93,75	0,11	0,12

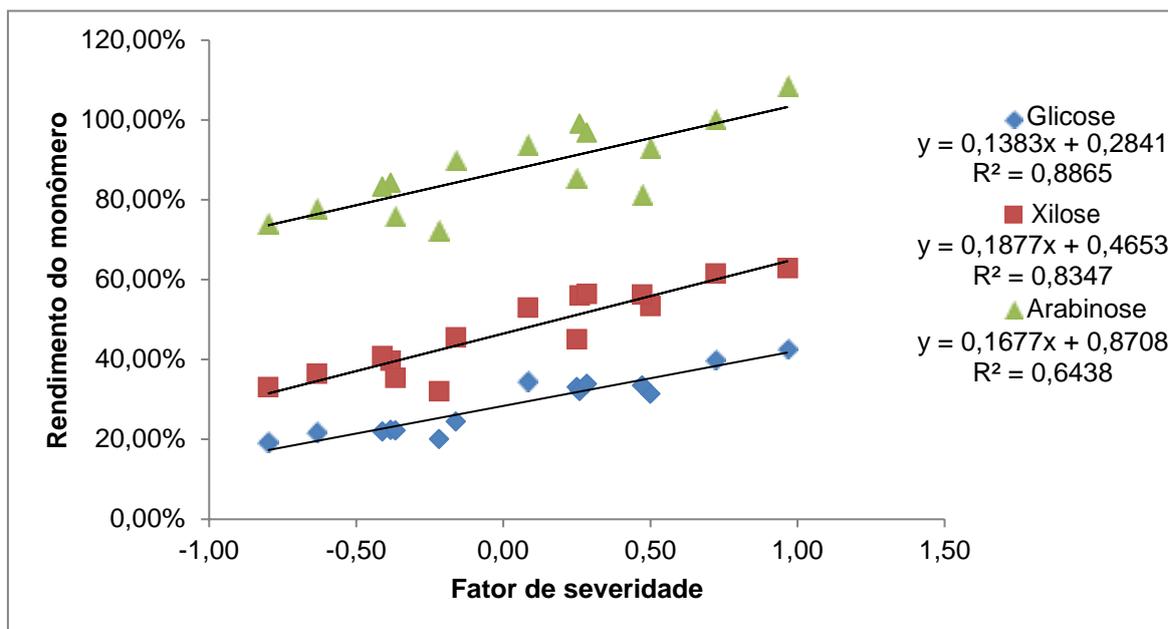
Pela Tabela 6 observa-se que em relação ao maior FCS (0,97) os dados mostraram-se simétricos apresentando também maiores valores de rendimento para glicose (38,46%), xilose (63,0%) e arabinose (100,0%), isso mostra que mesmo as condições mais severas de pré-tratamento utilizadas nesse experimento não conseguiram diminuir o rendimento de monômeros. Outros trabalhos como o feito por PAPPAS et al. (2014) obtiveram resultados diferentes encontrando valores reduzidos em FCS maiores de 0,93, indicando a degradação.

É importante notar que os rendimentos de glicose obtidos foram altos comparados, por exemplo, ao pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído do capim zebra, palha de arroz e bagaço de cana-de-açúcar, realizado por Guo et al., 2008, que obteve rendimento máximo de glicose de aproximadamente 12% mesmo utilizando valores de FCS de até 2,2.

No entanto vale ressaltar que no experimento realizado por Guo et al., 2008 foi encontrado maior rendimento de xilose, chegando a valores superiores a 80% nas condições mais rigorosas de pré-tratamento para as três biomassas, o resultado para o rendimento de arabinose foi semelhante ao encontrados neste experimento.

O rendimento de arabinose foi como esperado, já que dada a menor porcentagem de arabinanas presente na matéria-prima era esperado que houvesse quase total solubilização desta, mesmo em condições moderadas (HERNÁNDEZ et al., 2013).

Figura 7: Correlação entre fator de severidade e rendimento de glicose xilose e arabinose



A figura 7 mostra que há uma correlação razoável entre o rendimento de glicose e xilose e o fator de severidade, já a arabinose apresenta vários desvios, possivelmente devido ao erro experimental.

Quanto aos inibidores devido as condições brandas de severidade usadas nesse experimento era esperado que os valores baixos para HMF e Furfural valores semelhantes foram encontrados por Panagiotopoulos et al., 2012 que obteve concentrações máximas de 0,3 g/l e 0,1 g/ de HMF e furfural respectivamente.

Em relação ao pré-tratamento o valor mais alto do FCS também corresponde a maior concentração de HMF (0,47). A maior concentração de furfural (0,40) no hidrolisado correspondeu a segundo maior fator de severidade (0,72), isso pode indicar uma possível degradação desse inibidor nas condições mais severas utilizadas nesse experimento.

É reportado na literatura que a inibição total da atividade fermentativa é provocada apenas por concentrações superiores a 2 g/l, valores tão altos são encontrados com fatores de severidade maior que 2 (LARSSON et al., 1999; LEE; LIM; LEE, 2015).

No entanto vale ressaltar que o furfural é levemente mais tóxico que o HMF provocando a inibição de 25% e 50% em concentrações de 0,7g/l e 1,6g/l respectivamente (PANAGIOTOPOULOS et al., 2012).

Alguns autores informam que concentrações de HMF até 0,6 g/l são toleráveis por boa parte dos microrganismos fermentadores e concentrações maiores que 1,0 g/l de Furfural devem ser evitadas a fim de não afetar o rendimento da fermentação.

Os hidrolisados com maiores concentrações de HMF e furfural deste experimento poderiam ser fermentados sem sinais de inibição (na hipótese da inexistência de outros inibidores), pois essas concentrações são toleráveis para a maioria dos microrganismos fermentadores.

5.3. Otimização da hidrólise ácida

A Tabela 7 mostra os valores obtidos no pré-tratamento das ramas da batata-doce para os monossacarídeos glicose, xilose, arabinose e para os inibidores HMF e furfural.

Tabela 6: Resultados dos ensaios planejamento composto central para monossacarídeos e inibidores.

Ensaio	Glicose (g/l)	Xilose (g/l)	Arabinose (g/l)	HMF (g/l)	Furfural (g/l)
1	4,80	2,24	2,15	0,08	0,06
2	8,01	3,30	3,22	0,24	0,06
3	4,41	2,22	2,16	0,10	0,06
4	9,60	4,15	3,69	0,14	0,13
5	4,05	1,88	1,83	0,11	0,05
6	7,47	3,43	3,46	0,10	0,09
7	4,48	2,38	2,21	0,09	0,06
8	7,65	3,55	3,12	0,32	0,07
9	4,16	2,14	2,09	0,07	0,06
10	7,52	3,14	3,13	0,24	0,08

Tabela 7: Resultados dos ensaios planejamento composto central para monossacarídeos e inibidores (Continuação)

Ensaio	Glicose (g/l)	Xilose (g/l)	Arabinose (g/l)	HMF (g/l)	Furfural (g/l)
11	3,96	2,18	2,09	0,09	0,07
12	8,34	3,84	3,34	0,14	0,15
13	4,15	1,93	1,91	0,09	0,06
14	7,40	3,12	3,06	0,12	0,13
15	4,46	2,40	2,28	0,10	0,07
16	7,73	3,39	3,22	0,40	0,07
17	5,44	2,42	2,19	0,17	0,06
18	13,31	5,19	3,80	0,30	0,17
19	7,01	3,51	2,53	0,16	0,12
20	13,42	5,08	2,22	0,47	0,13
21	6,45	2,79	2,52	0,13	0,10
22	11,83	4,17	3,41	0,41	0,09
23	6,74	3,05	2,26	0,25	0,08
24	12,09	5,66	3,81	0,25	0,17
25	6,14	2,55	2,27	0,13	0,09
26	8,17	3,49	3,13	0,49	0,09
27	7,27	2,97	2,08	0,23	0,10
28	11,75	4,61	3,79	0,24	0,12
29	6,18	2,42	2,15	0,22	0,07
30	12,62	4,68	3,17	0,31	0,20
31	8,16	3,21	2,58	0,17	0,09
32	11,70	4,55	3,58	0,51	0,18
33	5,31	2,39	2,47	0,10	0,08
34	11,70	4,55	3,62	0,47	0,18
35	5,52	2,32	2,41	0,10	0,08
36	9,79	4,05	3,31	0,13	0,13
37	3,21	2,45	1,42	0,05	0,07
38	8,77	3,67	3,57	0,20	0,10
39	6,09	2,56	2,53	0,31	0,06
40	9,30	4,08	3,23	0,17	0,13
41	9,44	3,83	3,13	0,11	0,12
42	9,25	3,89	3,28	0,12	0,15
43	8,17	3,38	3,35	0,12	0,17
44	9,43	3,89	3,00	0,13	0,21

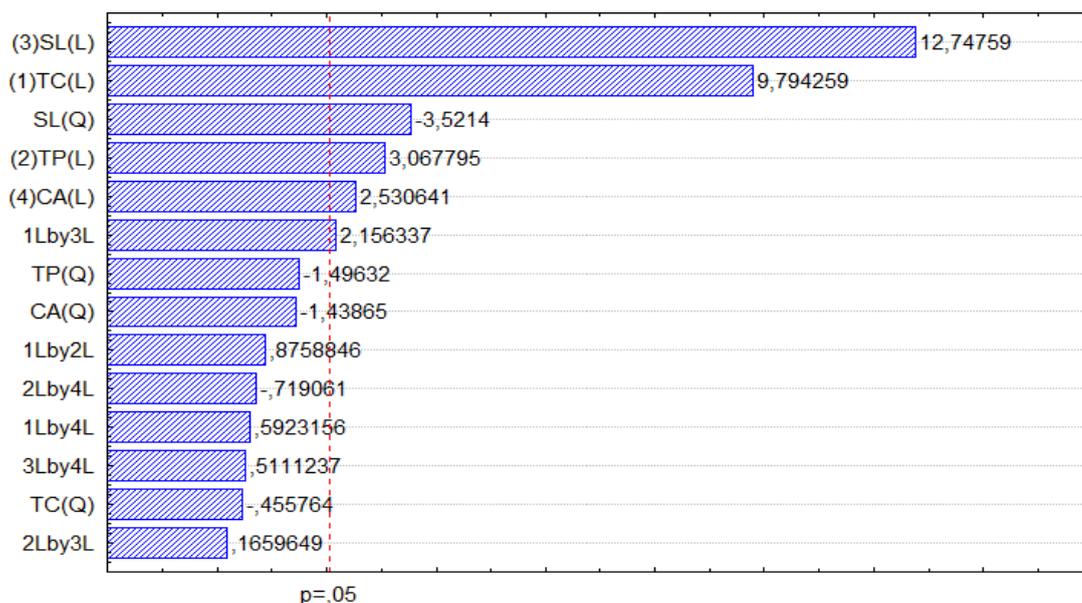
5.3.1. Modelagem Glicose

O gráfico Pareto (figura 8) permite visualizar a influência dos termos do modelo empírico na concentração de glicose no hidrolisado, neste tipo de gráfico o

comprimento de cada barra é proporcional ao efeito padronizado, que é o efeito estimado dividido pelo seu erro padrão.

Como pode ser observado por este gráfico os termos que mais tiveram influência nesta resposta foram a carga de sólidos (linear), como já era esperado, e a temperatura (linear).

Figura 8: Gráfico de Pareto para coeficientes da concentração de glicose



O efeito quadrático da carga de sólidos aparece como terceiro efeito mais significativo, e dentre os efeitos significativos é o único com sinal negativo isto indica que em certo ponto o aumento da carga de sólidos pode levar a redução da concentração de glicose no licor.

Timung et al., 2015 também encontraram este efeito negativo da carga de sólidos para valores superiores a 10% usando pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído no bagaço de cana e bambu, embora esses autores tenham usado açúcares redutores totais com resposta para o experimento a comparação ainda é válida, pois a glicose corresponde a maior parte deste tipo de açúcar no hidrolisado.

A causa disso pode ser atribuída ao excesso de substrato disponível no meio reacional, o catalisador (ácido sulfúrico) perde sua efetividade com o aumento da carga de sólidos afetando negativamente o rendimento. Essa informação foi confirmada por Kootstra et al., 2009 que também notaram a redução da efetividade do pré-tratamento da palha de trigo quando a carga de sólidos era aumentada de 10% para 20% e 30%.

O tempo e a concentração de ácido também aparecem como efeitos significativos, no entanto sua influência na resposta se mostra menor do que a temperatura e carga de sólidos.

Como último efeito significativo tem-se a interação positiva entre a carga de sólidos e a temperatura, essa interação indica que o aumento combinado desses dois fatores age sinergicamente aumentando ainda mais a quantidade de glicose obtida.

Era esperado que com o aumento da temperatura, tempo e concentração de ácido, houvesse a redução da concentração de glicose, pois os altos níveis desses fatores provocariam a degradação da glicose levando a formação de HMF (TOFTGAARD et al., 2015).

Os efeitos lineares significativos encontrados neste experimento mostram que nas condições empregadas a degradação da glicose não foi suficiente a ponto de influenciar negativamente seu rendimento final.

Embora não tenha sido verificada nas condições usadas neste experimento a existência de um efeito negativo da temperatura na concentração de glicose foi constatado por Ruiz et al., 2013, eles analisaram o efeito do pré-tratamento ácido em caules de soja e utilizaram temperaturas entre 120 e 200°C, em razão dessas condições mais rigorosas a temperatura teve um efeito de ordem quadrática e negativa confirmando a degradação deste monômero.

Com base no gráfico de Pareto, o modelo proposto para a resposta da glicose neste experimento pode ser descrito pela equação 14:

$$C. \text{Glicose} = 1,58TC + 0,49TP + 2,05SL + 0,407CA + 0,39TC \times SL - 0,61SL^2 + 8,34 \quad (14)$$

Para este modelo o R^2 ajustado foi de 0,876. O R^2 ajustado é uma relação que demonstra o quanto o modelo é capaz de explicar o resultado encontrado na resposta (glicose), neste caso o modelo da equação (14) é capaz de explicar 87,6% dos valores de concentração de glicose obtidos no licor.

A Tabela 8 mostra a Análise de Variância (ANOVA) ($\alpha=0,05$) dos termos propostos para a modelagem da resposta de glicose. Nessa análise foram escolhidos apenas os termos significantes determinados pelo gráfico de Pareto.

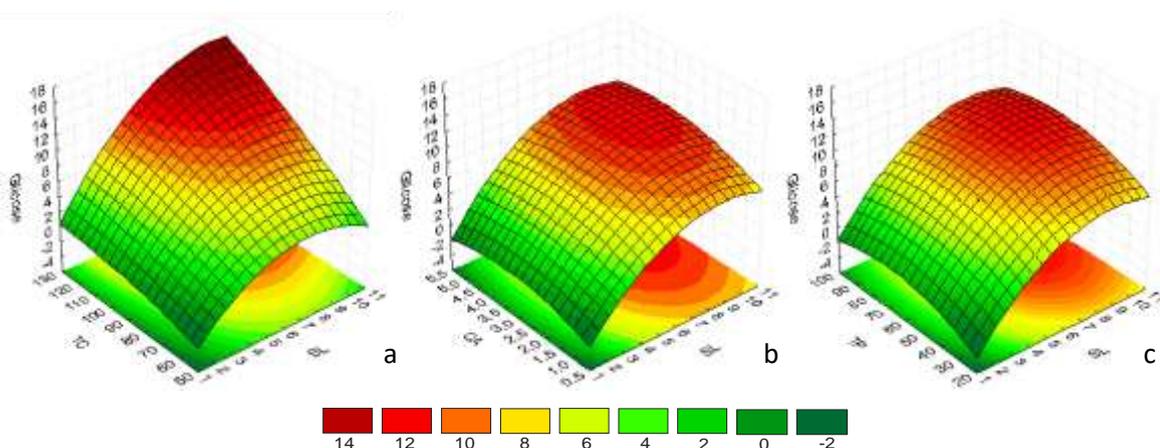
Como se pode verificar o modelo foi considerado muito significativo (p-valor $<0,001$) podendo ser utilizado para representar os dados reais do experimento. Além disso, a falta de ajuste não foi significativa o que é bom, pois simboliza que o modelo se ajusta aos dados experimentais.

Tabela 7 : Análise de Variância (ANOVA) para superfície de resposta da Glicose de modelo Quadrático.

Fonte	Grau de liberdade	Quadrado Médio	F _{Calc.}	p-valor Prob> F
Modelo	6	49,84	51,74	$< 0.0001^*$
TC	1	99,30	103,07	$< 0.0001^*$
TP	1	9,74	10,11	0,0030*
SL	1	168,22	174,60	$< 0.0001^*$
CA	1	6,63	6,88	0,0126*
TAxSL	1	4,81	5,00	0,0315*
SL²	1	10,36	10,76	0,0023*
Resíduo	37	0,96		
Falta de ajuste	18	1,30	2,04	0,0662
Erro puro	19	0,64		

A ascendência do plano na figura 9a nas superfícies de resposta abaixo confirma a influência da interação entre os fatores temperatura e carga de sólidos. Pelo gráfico fica claro que o uso máximo desses dois valores no experimento é diretamente relacionado com a máxima concentração de glicose.

Figura 9: Superfície de resposta glicose: a - carga de sólidos (SL) x temperatura (TC); b - carga de sólidos (SL) x concentração de ácido (CA); carga de sólidos (SL) x tempo (TP).

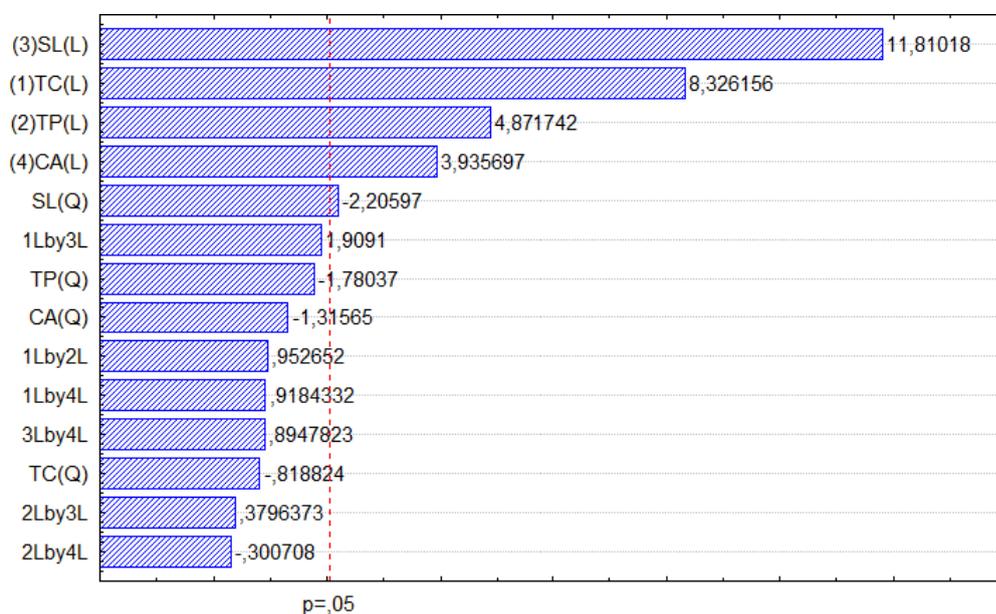


As superfícies de resposta da figura 9b e 9c mostram que a influência dos demais termos na concentração de glicose, embora seja estatisticamente significativa é bem menor que a carga de sólidos, o próprio termo quadrático da carga de sólidos não é capaz de causar grande impacto na concentração de glicose, já que observando as superfícies de respostas a degradação deste monômero não é aparente.

5.3.2. Modelagem Xilose

Como se pode observar pelo gráfico de Pareto, os efeitos lineares dos quatro fatores são os que mais influenciam a resposta de xilose. Assim como a glicose a xilose tem sua concentração influenciada principalmente pelos fatores carga de sólidos (SL) e temperatura (TC), mas ao contrário da glicose os fatores tempo e concentração de ácido foram mais relevantes na resposta de xilose.

Figura 10: Gráfico de Pareto para coeficientes da concentração de xilose



Guo et al., 2008 também verificaram efeito semelhante na hidrólise de capim zebra com ácido sulfúrico diluído notando que a mudança da concentração de ácido de 2% para 3% aumentava sensivelmente a concentração de xilose até 10 minutos de reação. No entanto o aumento na concentração de xilose foi menor a partir desse

tempo. Nesse mesmo trabalho se concluiu que rendimento máximo de xilose era obtido a partir dos 60 minutos de reação.

Tabela 8: Coeficientes do modelo Xilose.

Termos	Coeficientes	p=
Intercepto	3,65395	
TC	0,484912	< 0.0001a
TP	0,283729	< 0.0001a
SL	0,687822	< 0.0001a
CA	0,229214	0,0002a
TCxSL	0,124309	0,0553c
TP ²	-0,11815	0,0983c
SL ²	-0,14975	0,0383b

Como pode ser observado na Tabela 9 dos coeficientes além dos fatores lineares outros fatores foram marginalmente significantes, no entanto optou-se por utilizar no modelo da resposta de xilose somente os fatores lineares que são muito significantes a fim de melhorar a precisão deste modelo.

Assim como para glicose as condições operacionais usadas no experimento não provocaram um efeito negativo quadrático nos fatores que afetaram significativamente na concentração de xilose.

Tabela 9: Tabela de ANOVA para superfície de resposta Xilose modelo Linear

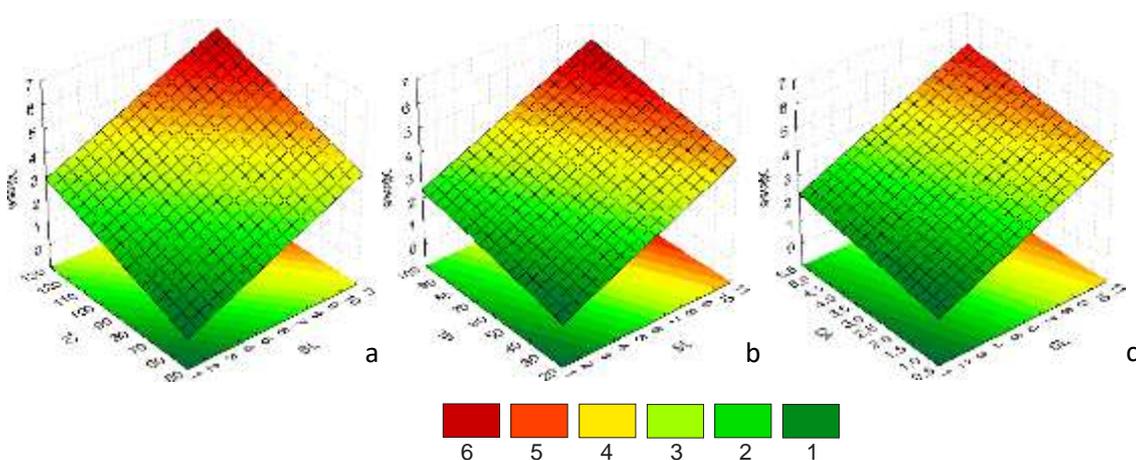
Fonte	Grau de liberdade	Quadrado Médio	F Calc.	p-valor Prob> F
Modelo	4	8,41	57,09	< 0.0001
TC	1	9,41	63,83	< 0.0001
TP	1	3,22	21,85	< 0.0001
SL	1	18,92	128,42	< 0.0001
CA	1	2,10	14,26	0,0005
Resíduo	39	0,15		
Falta de ajuste	20	0,21	2,80	0,0145
Erro puro	19	0,077		

Pela tabela de Análise de Variância (ANOVA) para a resposta de xilose (Tabela 10) se conclui que a exclusão de efeitos pouco significantes deste modelo ocasionou uma falta de ajuste significativo. Dessa forma o modelo escolhido (equação 15), embora seja significativo, não se ajusta aos dados do experimento.

$$C. \text{Xilose } 0,484912TC + 0,283729TP + 0,687822SL + 0,229214CA + 3,65395 \quad (15)$$

A dificuldade de modelar a resposta da concentração de xilose pode ser atribuída ao fato deste açúcar ter sido consumido nas reações de degradação que levam a formação de furfural.

Figura 11: Superfície de resposta glicose: a - carga de sólidos (SL) x temperatura (TC); b - carga de sólidos (SL) x concentração de ácido (CA); carga de sólidos (SL) x tempo (TP).



As superfícies de resposta na figura 11, são planos sem curvatura característicos de modelo lineares, é possível observar que a combinação de maior carga de sólida e maior temperatura é capaz de aumentar a produção de xilose no hidrolisado.

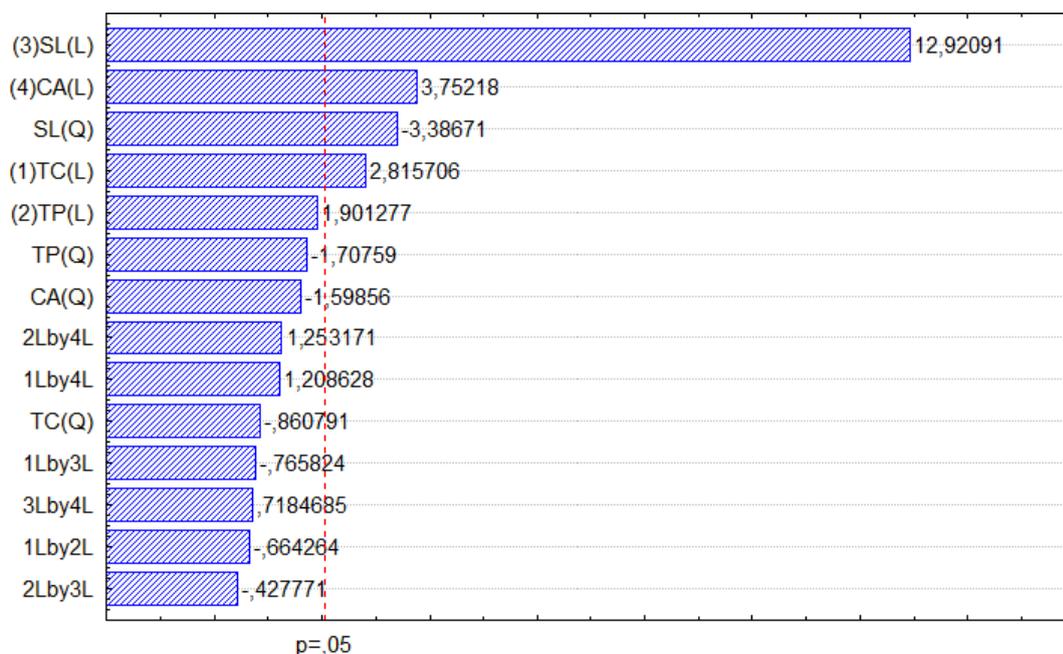
Como o ápice da conversão da hemicelulose para xilose não foi alcançado os fatores podem ser incrementados além dos valores usados neste experimento a fim de aumentar ainda o rendimento de xilose no hidrolisado.

5.3.3. Modelagem Arabinose

Pela análise dos efeitos dos fatores referentes a resposta de arabinose temos um resultado relativamente diferente da xilose, embora estes dois monossacarídeos façam parte da composição da hemicelulose.

Os resultados das análises de coeficientes demonstram que as ligações nas arabinanas são mais suscetíveis ao ataque ácido, dessa forma o coeficiente é superior a temperatura.

Figura 12: Gráfico de Pareto para coeficientes da concentração de Arabinose.



Ao contrário dos modelos obtidos para outros monossacarídeos o tempo de reação dos ensaios não teve efeito significativo na concentração de arabinose no hidrolisado.

Tabela 10: Coeficientes do modelo Arabinose

Termos	Coefficientes	p=
Intercepto	3,18955	
TC	0,120888	0,0087
TP	0,081629	0,0672
SL	0,554739	< 0.0001
CA	0,161095	0,0008
TP ²	-0,09346	0,0984
SL ²	-0,18536	0,0021

Pela tabela dos coeficientes nota-se que embora não tenham sido significantes com um intervalo de confiança de 5% o termo linear e o termo quadrático do fator tempo para resposta de arabinose foram marginalmente

significantes. O termo quadrático possui sinal negativo o que evidencia uma leve taxa de degradação da arabinose próximo ao tempo máximo de 60 minutos usado neste trabalho.

O modelo da resposta de arabinose na equação 16 teve R^2 ajustado de 0,806, valor levemente abaixo que a resposta de glicose, por exemplo, a razão disso pode ser atribuída a falta de termos quadráticos que indique a degradação da arabinose, que eventualmente aconteceria conforme os fatores fossem aumentados.

$$C. \text{ Arabinose} = 0,12TC + 0,55SL + 0,16CA - 0,18SL^2 + 3,18955 \quad (16)$$

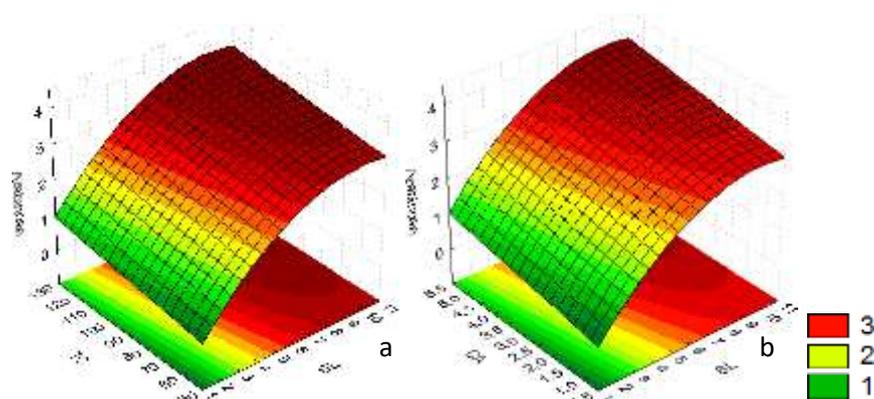
A ANOVA do modelo (tabela 12) para resposta de arabinose comprova que este é significativo, a falta de ajuste não significativo confirma que o modelo se ajusta aos dados.

Tabela 11: Análise de Variância (ANOVA) para superfície de resposta Arabinose modelo Quadrático.

Fonte	Grau de liberdade	Quadrado Médio	F _{Calc.}	p-valor Prob> F
Modelo	8	1,89	26,63	< 0,0001
TC	1	0,58	8,22	0,0070
TP	1	0,27	3,75	0,0610
SL	1	12,31	173,09	< 0,0001
CA	1	1,04	14,60	0,0005
TP²	1	0,21	3,02	0,0909
SL²	1	0,85	11,89	0,0015
CA²	1	0,19	2,65	0,1126
Resíduo	37	0,96		
Falta de ajuste	16	0,066	0,87	0,6111
Erro puro	19	0,076		

A superfície de resposta mostra que em relação à carga de sólidos (SL) a concentração de arabinose atingiu seu valor máximo, sugerindo que valores de carga de sólidos acima de 11% podem ocasionar diminuição da concentração desse monômero no hidrolisado.

Figura 13: Superfície de resposta xilose: a - carga de sólidos (SL) x temperatura (TC); b - carga de sólidos (SL) x concentração de ácido (CA).



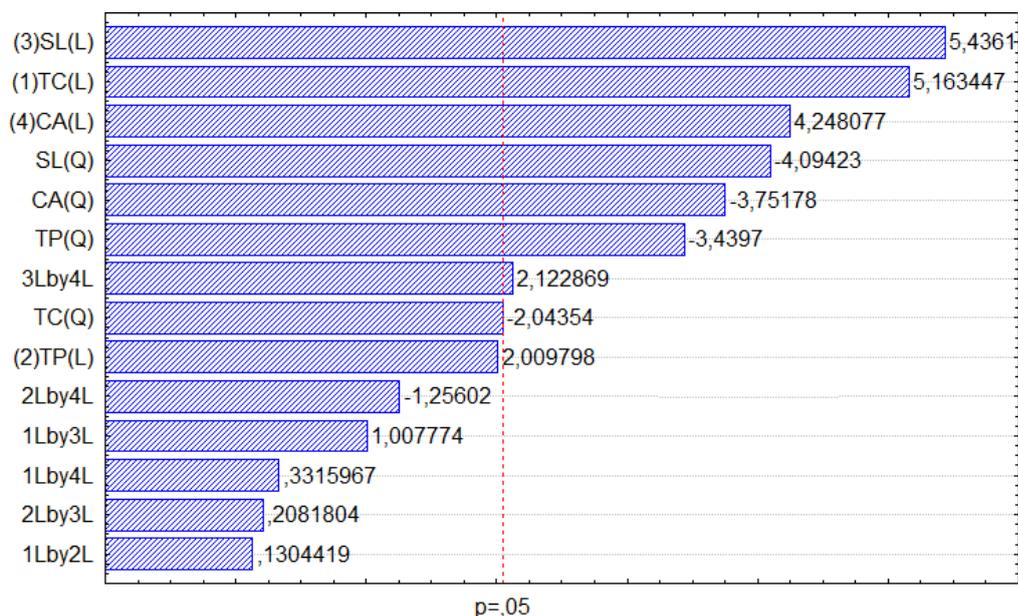
Como foi constatado na análise do efeito do fator de severidade, em algumas condições usadas neste experimento a arabinose já é totalmente solubilizada, portanto é necessário ter cuidado ao alterar certos parâmetros do experimento a fim de melhorar o rendimento de outros açúcares, pois isto eventualmente levará a degradação deste monômero.

5.3.4. Modelagem Furfural

A Figura 14 mostra o gráfico de Pareto para a modelagem da variável dependente Concentração de Furfural no hidrolisado.

O gráfico de Pareto mostra que o efeito significativo dos principais fatores na resposta de furfural. Esta resposta apresentou todos os quatro termos quadráticos negativos e significantes. Além deste, a interação entre os fatores carga de sólidos e concentração de ácido também foi significativa.

O sinal negativo nos termos quadráticos para furfural estão relacionados à degradação deste inibidor durante o experimento. A formação de furfural não foi suficiente para manter sua quantidade alta em algumas condições usadas no experimento.

Figura 14: Gráfico de Pareto para coeficientes da concentração de Furfural

Com base no gráfico de Pareto e na análise de variância foi possível definir o modelo conforme equação 17 considerando o coeficiente de confiança de 95%.

$$C. \text{ Furfural} = 0,039TC + 0,015TP + 0,041SL + 0,032CA + 0,018SLXCA - 0,019TC^2 - 0,033TP^2 - 0,039SL^2 - 0,036CA^2 \quad (17)$$

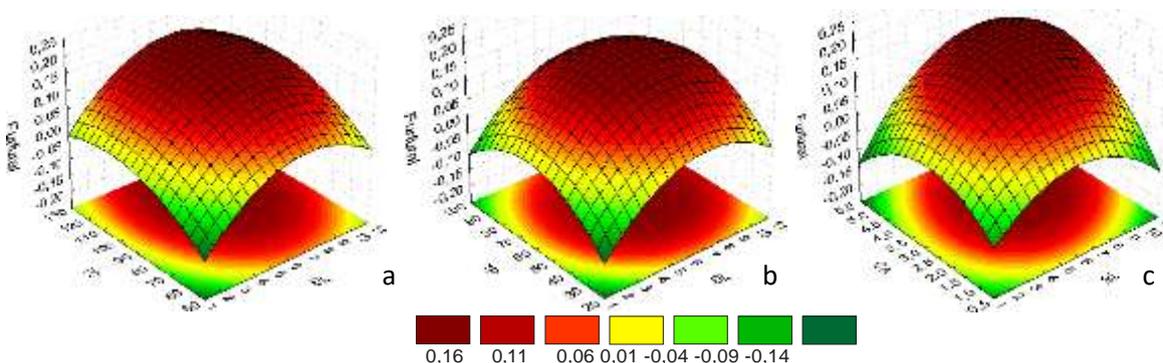
Com o uso da ANOVA (Tabela 13) confirmamos que o modelo escolhido é significativo e se ajustar aos dados.

Tabela 12: Análise de Variância (ANOVA) para superfície de resposta furfural modelo Quadrático

Fonte	Grau de liberdade	Quadrado Médio	F _{Calc.}	p-valor Prob> F
Modelo	9	0,029	13,35	< 0.0001
TC	1	0,061	28,54	< 0.0001
TP	1	9,299E-003	4,32	0,0452
SL	1	0,068	31,63	< 0.0001
CA	1	0,042	19,32	0,0001
SLXCA	1	0,010	4,82	0,0350
TC²	1	9,614E-003	4,47	0,0419
TP²	1	0,027	12,66	0,0011
SL²	1	0,039	17,94	0,0002
CA²	1	0,032	15,07	0,0005
Resíduo	37	2,151E-003		
Falta de ajuste	16	2,543E-003	1,38	0,2502
Erro puro	19	1,841E-003		

O R^2 ajustado para esta resposta foi de 0,72, o menor valor dentre os modelos definidos, tal resultado era esperado, pois a resposta teve um resultado incomum ocasionado pela degradação do composto.

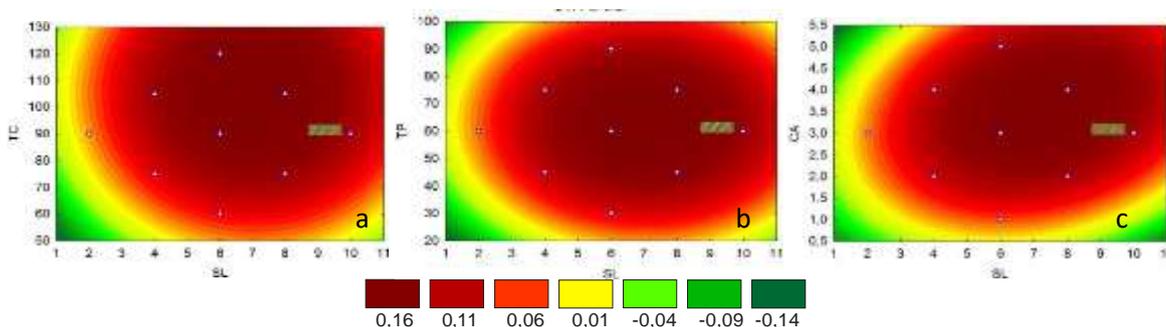
Figura 15: Superfície de resposta furfural: a - carga de sólidos (SL) x temperatura (TC); b - carga de sólidos (SL) x concentração de ácido (CA); carga de sólidos (SL) x tempo (TP).



A figura 15 mostra as superfícies de resposta para modelagem da resposta furfural. Dado as características do modelo como esperado tem-se uma superfície côncava mostrando o ápice da concentração de furfural nos pontos centrais deste experimento. Conforme se aumenta os fatores à degradação toma lugar, todavia o gráfico de contorno na figura 16 mostra uma característica interessante do modelo. Considerando a magnitude dos efeitos quadráticos era esperado que a combinação desses levasse a redução da concentração de furfural a valores menores que 0,01g/l isso não acontece por causa do efeito sinérgico da interação entre a carga de sólidos e a concentração de ácido.

A degradação de furfural encontrada neste trabalho é possível porque normalmente a energia de ativação necessária para degradar esse inibidor é 58,85% menor que a energia necessária para produzi-lo, considerando um modelo cinético de primeira ordem (LAVARACK; GRIFFIN; RODMAN, 2002).

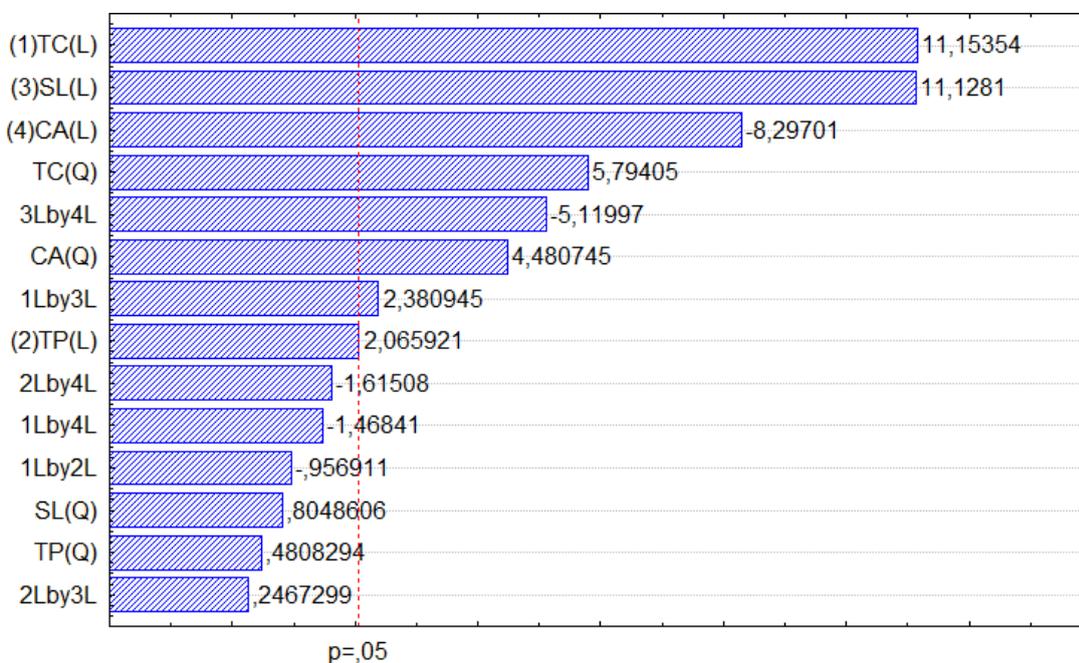
Figura 16: Gráfico de contorno modelo Furfural



5.3.5. Modelagem HMF

O gráfico de Pareto da figura 17 mostra que para concentração de HMF têm-se todos os termos lineares dos fatores como significantes, destes termos, a concentração de ácido mostrou-se negativa, significando que o aumento deste fator leva a diminuição da concentração de HMF.

Figura 17: Gráfico de Pareto para coeficientes da concentração de HMF



Ao contrário do efeito linear o efeito quadrático da concentração de ácido foi positivo, como também o efeito quadrático da temperatura.

Como significativo também há dois efeitos de interação, a interação entre a concentração de ácido e carga de sólidos, que é negativa, portanto o aumento desses dois fatores conjuntamente leva a redução da concentração de HMF no hidrolisado. Já a interação entre temperatura e carga de sólidos é positiva levando a produção de mais HMF quando valores maiores desses dois fatores são combinados.

O modelo baseado nos termos significantes conforme o gráfico de Pareto é mostrado na equação abaixo:

$$C. \text{ HMF} = 0,070\text{TC} + 0,013\text{TP} + 0,069\text{SL} - 0,052\text{CA} + 0,017 \text{TCxSL} - 0,036\text{SLxCA} + 0,044 \text{TC}^2 + 0,034\text{CA}^2 + 0,13 \quad (18)$$

A ANOVA (tabela 14) confirmou que o modelo definido foi significativo apresentando boa parte dos termos significantes, a falta de ajuste foi significativa indicando que o modelo não se ajusta aos dados experimentais. O R^2 ajustado para o modelo foi de 0,899, um bom valor que indica que o modelo é capaz de explicar 89,9% das alterações na concentração de HMF que aconteceram no experimento quando os fatores foram alterados.

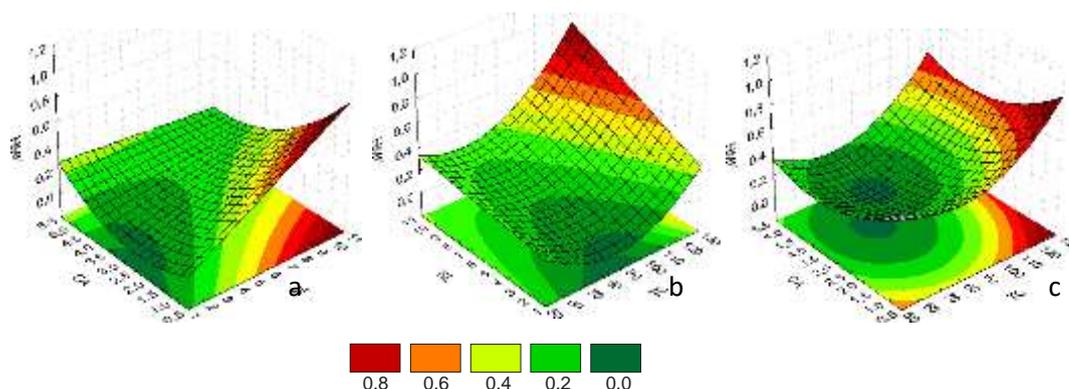
Tabela 13: Análise de Variância (ANOVA) para superfície de resposta furfural modelo Quadrático

Fonte	Grau de liberdade	Quadrado Médio	F _{Calc.}	p-valor Prob> F
Modelo	8	0,078	49,28	< 0.0001
TC	1	0,19	122,71	< 0.0001
TP	1	6,657E-003	4,21	0,0477
SL	1	0,19	122,16	< 0.0001
CA	1	0,11	67,91	< 0.0001
SLXCA	1	8,842E-003	5,59	0,0237
TCXSL	1	0,041	25,86	< 0.0001
TC²	1	0,053	33,30	< 0.0001
CA²	1	0,031	19,41	< 0.0001
Resíduo	35	1,581E-003		
Falta de ajuste	16	2,911E-003	6,31	0,0001
Erro puro	19	4,611E-004		

Analisando as superfícies de resposta b e c da figura 18, é possível vermos claramente como os efeitos das interações deste modelo atuam de forma diferente na resposta, na figura 18a a redução pela combinação entre concentração de ácido e carga de sólidos diminuíram significativamente a concentração de HMF, já pela figura 18b percebe-se que a combinação de temperatura e carga de sólidos permite atingir uma maior concentração do inibidor em questão.

A figura 18c evidencia uma formação pequena de HMF em temperaturas mais baixas seguida por degradação desse inibidor e logo depois um aumento significativo.

Figura 18: Superfície de resposta HMF: a - Concentração de ácido (CA) x Carga de sólidos (SL); b - Carga de sólidos (SL) x Temperatura (TC); c - Concentração de ácido (CA) x temperatura (TP).



Uma explicação provável para o formato da superfície de resposta da figura 18c é que a concentração de HMF aumenta em temperaturas mais baixas devido a degradação de hexoses provenientes da hemicelulose (manose, glicose), com o aumento da temperatura os valores da degradação de HMF se tornam equivalentes a sua taxa de produção, fazendo com que concentração deste chegue a zero nessas condições, um novo aumento da temperatura a valores máximos do experimento leva a disponibilidade de mais glicose no hidrolisado, está por sua vez permite que a concentração de HMF também aumente conjuntamente.

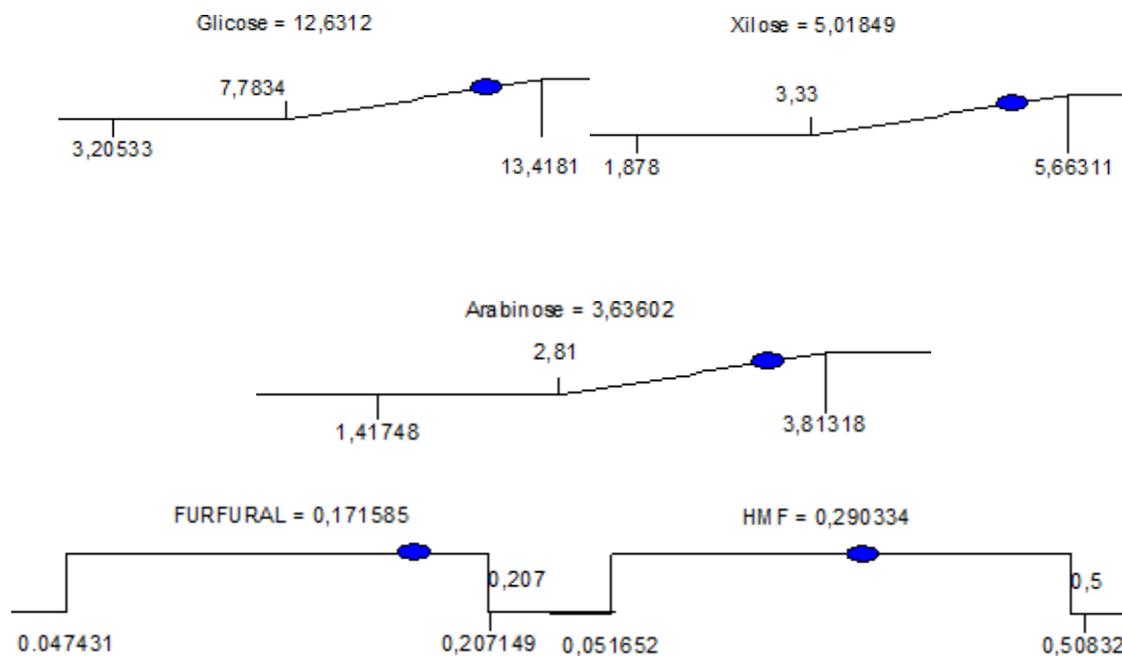
Percebe-se também que o principal responsável pela degradação do HMF é a concentração de ácido com valores de até 3%, acima deste valor a degradação tem menor influência, desde que não se aumente a carga de sólidos conforme foi explicado na discussão da figura 18a.

5.4. Otimização das respostas

Após a modelagem de todas as respostas do experimento aplicou-se a técnica de desejabilidade conforme já descrito na metodologia, com o adendo de que para as respostas de glicose, xilose e arabinose foram definidos como limite inferior na função de desejabilidade individual a média dos resultados a fim de eliminar valores mais baixos na otimização. Isso não foi aplicado para os inibidores pois a concentração desses já estava baixa em todas as condições testadas, por esta razão também se optou por aplicar a equação 13, para definição do valor de desejabilidade individual destes.

A otimização realizada no programa Design expert forneceu 100 soluções baseadas nos critérios definidos para os fatores e respostas. A solução escolhida foi a que forneceu melhor valor de desejabilidade geral (0,794). Na figura 19 é possível verificar que o resultado ótimo das respostas do experimento é obtido usando os valores máximos do planejamento fatorial. Em relação aos inibidores o valor para HMF está na média dos encontrados no experimento, já para furfural temos um valor acima da média, no entanto como já vimos previamente esse valor não é suficiente a ponto de provocar impacto na fermentação.

Figura 19: Resultado otimização das respostas do planejamento composto central



6. CONCLUSÕES

Pelo que foi mostrado nos resultados conclui-se que nas mais severas condições experimentais testadas é possível obter a total solubilização das arabinanas e rendimento de até 38,46% de glicose e 63% xilose, ressaltando que nessas condições não há formação excessiva de inibidores.

Conclui-se também que a carga de sólidos é o fator que mais afeta a solubilização de açúcares, embora em alguns casos esse fator provoque uma leve diminuição no rendimento do processo.

Os demais fatores influenciam em menor grau a resposta dos açúcares, e nas condições usadas neste experimento não foram capazes de provocar degradação significativa destes açúcares durante os ensaios.

Para o furfural os efeitos dos fatores provocaram a degradação contribuindo para manter baixa sua concentração em várias etapas do experimento.

O HMF também teve sua concentração reduzida por haver uma degradação em função da concentração de ácido nos ensaios. Assim uma concentração de ácido de 2% a 3,5% faz com que a taxa de degradação seja maior que a produção desse inibidor.

Enfim, considerando a baixa concentração de inibidores foi possível demonstrar a maior solubilização de açúcares, portanto as condições ótimas para o experimento foram definidas temperatura de 105°C, tempo de processo de 75 minutos, carga de sólidos de 8% e concentração de ácido de 4%, nessas condições teríamos 12,63g/l de glicose, 5,01g/l de xilose, 3,63g/l de arabinose, 0,17g/l de furfural e 0,29g/l de HMF.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKANKSHA, K. et al. Dilute acid pretreatment and enzymatic hydrolysis of sorghum biomass for sugar recovery — A statistical approach. v. 52, n. November, p. 1082–1089, 2014.

ALMODARES, A; HADI, M. . Production of bioethanol from sweet sorghum : A review. **Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 9, p. 772–780, 2009.

ANWAR, Z.; GULFRAZ, M.; IRSHAD, M. Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: A brief review. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 7, n. 2, p. 163–173, 2014.

BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conversion and Management**, v. 52, n. 2, p. 858–875, 2011.

BALAT, M.; BALAT, H.; ÖZ, C. Progress in bioethanol processing. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 34, n. 5, p. 551–573, 2008.

BNDES – BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL;CGEE– CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS (Org.). Bioetanol de canade-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável. Rio de Janeiro: BNDES, 2008.

CASTRO LAS; EMYGDIO BM; ABRANTES VL; ROCHA NEM; 2008. *Acessos de batata-doce do banco ativo de germoplasma da Embrapa Clima Temperado, com potencial de produção de biocombustível*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 23 (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 258

CANILHA, L.; MILAGRES, A.M.F.; ALMEIDA E SILVA, J.B.; FELIPE, M.G.A.; ROCHA, G.J.M.; FERRAZ, A.; CARVALHO, W. Sacarificação da Biomassa Lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática:

uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. **Revista Analytica**, n.44, p.48-53, 2009

CARVALHO, A. M. DE et al. Teores de Hemiceluloses, Celulose e Lignina em Plantas de Cobertura com Potencial para Sistema Plantio Direto no Cerrado. **Boletim de Pesquisas e desenvolvimento/EMBRAPA Cerrados - Planaltina - DF**, p. 15, 2010.

CARVALHO, W. et al. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. **Quimica Nova**, v. 32, n. 8, p. 2191–2195, 2009.

CASTRO, I. P. M. **USO DO SORO DE QUEIJO NA POTENCIALIZAÇÃO DA PRODUÇÃO CONVENCIONAL DE ETANOL A PARTIR DE DUAS CULTIVARES INDUSTRIAIS DE BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)**. [s.l.] Universidade Federal do Tocantins, 2009.

CHEN, C.; BOLDOR, D.; AITA, G.; WALKER, M. Ethanol production from sorghum by a microwave-assisted dilute ammonia pretreatment. **Bioresource Technology**, n. 110, p. 190-197, 2012.

CHEN, H.; HAN, Y.; XU, J. Simultaneous saccharification and fermentation of steam exploded wheat straw pretreated with alkaline peroxide. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 12, p. 1462-1466, 2008.

CHUM, Helena L.; JOHNSON, David K.; BLACK, Stuart K. Organosolv pretreatment for enzymic hydrolysis of poplars. 2. Catalyst effects and the combined severity parameter. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 29, n. 2, p. 156-162, 1990.

CORTEZ, D.V. **Permeabilização de Células de *Candida guilliermondii* empregando processos químicos e físicos e seu potencial uso como biocatalisadores na síntese de xilitol**. 125f. Tese (Doutorado em Biotecnologia

Industrial) -Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2010

DERMIBAS A. Bioethanol from cellulosic materials: are newable motor fuel from biomass. **Energy Sources**, v. 27, p. 327-333, 2005.

DUSSAN, K. et al. Kinetics of levulinic acid and furfural production from *Miscanthusx giganteus*. *Bioresource technology*, v. 149, p. 216-224, 2013.

DUVERNAY, W.H., CHINNA, M.S., YENCHO, G.C., 2013. Hydrolysis and fermentation of sweet potatoes for production of fermentable sugars and ethanol. *Ind. Crop. Prod.* 42, 527–537.

FERREIRA, A. D. **Utilização da levedura *Pichia stipitis* UFMG-IMH 43.2 para obtenção de etanol em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar**. 2010. 119 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) -Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2010.

FERRARI, M. D.; GUIGOU, M.; LAREO, C. Energy consumption evaluation of fuel bioethanol production from sweet potato. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 377–384, 2013.

Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database (FAOSTAT, 2008), disponível em <http://faostat3.fao.org/home/E>

FOTEINIS, S.; KOULOUMPIS, V.; TSOUTSOS, T. Life cycle analysis for bioethanol production from sugar beet crops in Greece. **Energy Policy**, v. 39, n. 9, p. 4834–4841, 2011.

GALBE, M.; ZACCHI, G. Pretreatment: The key to efficient utilization of lignocellulosic materials. **Biomass and Bioenergy**, v. 46, p. 70–78, 2012.

GALBE, M.; ZACCHI, G. A review of the production of ethanol from softwood. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.59, p.618-628, 2002.

GARCIA, D. **Estudo da produção de etanol pela levedura *Pichia stipitis* a partir do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de malte**. 2012. 153 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) -Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2012.

GOLDEMBERG, José. The Brazilian biofuels industry. **Biotechnology for biofuels**, v. 1, n. 1, p. 1, 2008.

GONÇALVES NETO, Á. C. et al. Correlação entre caracteres e estimação de parâmetros populacionais para batata-doce. p. 713–719, 2012.

GUO, G. et al. Characterization of dilute acid pretreatment of silvergrass for ethanol production. v. 99, p. 6046–6053, 2008.

HAHN-HÄGERDAL, Bärbel et al. Bio-ethanol—the fuel of tomorrow from the residues of today. **Trends in biotechnology**, v. 24, n. 12, p. 549-556, 2006.

HACKENHAAR, C. **Utilização do resíduo de biocombustível de batata doce (*Ipomoea batatas* (Lam.)) como fonte de adubação orgânica na formação de pastagens de *Brachiaria* CONVERT HD 364 em solos do cerrado**. [s.l.] Universidade Federal do Tocantins, 2012.

HAGHIGHI MOOD, S. et al. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 77–93, 2013.

HERNÁNDEZ, E. et al. Dilute sulphuric acid pretreatment and enzymatic hydrolysis of *Moringa oleifera* empty pods. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 227–231, 2013.

KAAR, W. E.; GUTIERREZ, C. V.; KINOSHITA, C. M. Steam explosion of sugarcane bagasse as a pretreatment for conversion to ethanol. **Biomass and Bioenergy**, v.14, p.277-287, 1998.

KOOTSTRA, A. M. J. et al. Comparison of dilute mineral and organic acid pretreatment for enzymatic hydrolysis of wheat straw. **Biochemical Engineering Journal**, v. 46, n. 2, p. 126–131, 2009.

LARSSON, S. et al. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 24, n. 3-4, p. 151–159, 1999.

LATIF, F.; RAJOKA, M.I. Production of ethanol and xylitol from corn cobs by yeasts. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 1, p. 57-63, 2001

LAVARACK, B. P.; GRIFFIN, G. J.; RODMAN, D. The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products. **Biomass and Bioenergy**, v. 23, n. 5, p. 367–380, 2002.

LEE, H.; LIM, W.; LEE, J. Improvement of ethanol fermentation from lignocellulosic hydrolysates by the removal of inhibitors. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 19, n. 6, p. 2010–2015, 2015.

LEMOS, Eliana GM et al. Bioenergia: desenvolvimento, pesquisa e inovação. **Coleção PROPe Digital (UNESP)**, 2012.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 65–69, 2002.

LIU, Z.; WU, X.; KIDA, K.; TANG, Y. Corn stover saccharification with concentrated sulfuric acid: Effects of saccharification conditions on sugar recovery and by-product generation. **Bioresource Technology**, v. 119, p. 224-233, 2012.

LYND, R.L.; VAN ZYL, W.H.; McBRIDE, J.E.; LASER, M. Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: an update. **Current Opinion in Biotechnology**, v.16, p.577-583, 2005.

MALUF, W. R. **A batata-doce e seu o potencial na alimentação humana , na alimentação animal , e na produção de etanol biocombustível .**, 2014. (Nota técnica).

MARTÍN, C.; KLINKE, H. B.; THOMSEM, A. B. Wet oxidation as a pretreatment method for enchancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse. **Enzyme and Mycrobial Technology**, v. 40, p. 426-432, 2007.

MARTINIANO, S. E. **Potencial fermentativo das leveduras Candida shehatae CG8-8BY e Spathaspora arborariae UFMG-HM 19.1A para a produção de etanol de segunda geração.** 2013. 103 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) -Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2013.

MARTINS, E. C. A. **Variabilidade fenotípica e divergência genética em clones de batata doce no estado do Tocantins.** [s.l.] Universidade Federal do Tocantins, 2010.

MILESSI, S. S. **Imobilização de células de Scheffersomyces stipitis para obtenção de etanol de segunda geração em biorreator STR tipo cesta.** 2012 148 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) -Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2012

MOHNEN, D.; BAR-PELED, M.; SOMERVILLE, C. **Cell Wall Polysaccharide Synthesis.** [s.l: s.n.].

MONTANE, D.; FARRIOL, X.; SALVADO, J.; JOLLEZ, P.; CHORNET, E. Application of steam explosion to the fractionation and rapid vapor- phase alkaline pulping of wheat straw. **Biomass and Bioenergy**, v.14, p.261-276, 1995

MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 6, p. 673–686, 2005.

ÖHGREN, K.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Optimization of steam pretreatment of SO₂-impregnated corn stover for fuel ethanol production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 121/124, p.1055-1067, 2005.

OVEREND, Ralph P.; CHORNET, E.; GASCOIGNE, J. A. Fractionation of lignocellulosics by steam-aqueous pretreatments [and discussion]. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 321, n. 1561, p. 523-536, 1987.

PANAGIOTOPOULOS, I. A. et al. Effect of low severity dilute-acid pretreatment of barley straw and decreased enzyme loading hydrolysis on the production of fermentable substrates and the release of inhibitory compounds. **Journal of Cleaner Production**, v. 32, p. 45–51, 2012.

PAPPAS, I. A. et al. Effect of dilute acid pretreatment severity on the bioconversion efficiency of *Phalaris aquatica* L. lignocellulosic biomass into fermentable sugars. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 395–402, 2014.

PAVLAK, M. C. M. et al. Estudo da fermentação do hidrolisado de batata-doce utilizando diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. **Quimica Nova**, v. 34, n. 1, p. 82–86, 2011.

PEREIRA RAMOS, L. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. **Quimica Nova**, v. 26, n. 6, p. 863–871, 2003.

PETERSEN, M. O.; LARSEN, J.; THOMSEN, M. H. Optimization of hydrothermal pretreatment of wheat straw for production of bioethanol at low water consumption without addition of chemicals. **Biomass and Bioenergy**, v.33, p.834-840, 2009.

PUPPAN, Daniel. Environmental evaluation of biofuels. **Periodica Polytechnica. Social and Management Sciences**, v. 10, n. 1, p. 95, 2002.

ROCHA, G.J.M.; SILVA, V.F.N.; MARTÍN, C.; GONÇALVES, A.R.; NASCIMENTO, V.M.; SOUTO-MAIOR, A.M. Effect of Xylan and Lignin Removal by Hydrothermal Pretreatment on Enzymatic Conversion of Sugarcane Bagasse Cellulose for Second Generation Ethanol Production. **Sugar Tech**, v. 15, n. 4, p. 390-398, 2013.

ROLZ, C. et al. Ethanol from sweet sorghum in a year-round production cycle. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 341–350, 2014.

ROSA, S. E. S.; GARCIA, J. L. F. O etanol de segunda geração: limites e oportunidades. **Revista do BNDES**, nº 32, dezembro 2009.

RUIZ, E. et al. Dilute sulfuric acid pretreatment of sunflower stalks for sugar production. **Bioresource Technology**, v. 140, p. 292–298, 2013.

SAHA, B.C.; BOTHAST, R.J. Pretreatment and Enzymatic Saccharification of corn fiber. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.76, p.65-77, 1999.

SALAZAR-ORDÓÑEZ, M.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, P. P.; MARTÍN-LOZANO, J. M. Sugar beet for bioethanol production: An approach based on environmental agricultural outputs. **Energy Policy**, v. 55, p. 662–668, 2013.

SÁNCHEZ, Ó. J.; CARDONA, C. A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5270–5295, 2008.

SANTOS, Fernando. Bioenergia e Biorefinaria: Cana de açúcar & Espécies Florestais. UFV: Viçosa, 2013.

SARKAR, N. et al. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. **Renewable Energy**, v. 37, n. 1, p. 19–27, 2012.

SCHELL, D.J., FARMER, J., NEWMAN, M., MCMILLAN, J.D. Dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover in pilot-scale reactor. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.105, n. 108, 69–85, 2003.

SCHELL D.J., WALTER P.J., JOHNSON D.K. Dilute sulphuric-acid pretreatment of corn stover at high solids concentration—scientific note. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 34, n. 35, p. 659–65, 1992.

SILVEIRA, M. A., coord.; Boletim Técnico – UFT, Palmas, Brasil, 2008

SILVA, Vinícius Fernandes Nunes da. **Estudos de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol celulósico**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

Sluiter, A., Hames, B., Hyman, D., Payne, C., Ruiz, R., Scarlata, C., ... & Wolfe, J. (2008). Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples. **National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO, NREL Technical Report No. NREL/TP-510-42621, 1-6**.

SUN, Z.; TANG, Y.; MORIMURA, S. KIDA, K. Reduction in environmental impact of sulfuric acid hydrolysis of bamboo for production of fuel ethanol. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 87-93, 2013.

TIMUNG, R. et al. Optimization of dilute acid and hot water pretreatment of different lignocellulosic biomass: A comparative study. **Biomass and Bioenergy**, v. 81, p. 9–18, 2015.

TOFTGAARD, A. et al. Synthesis of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) by acid catalyzed dehydration of glucose – fructose mixtures. v. 273, p. 455–464, 2015.

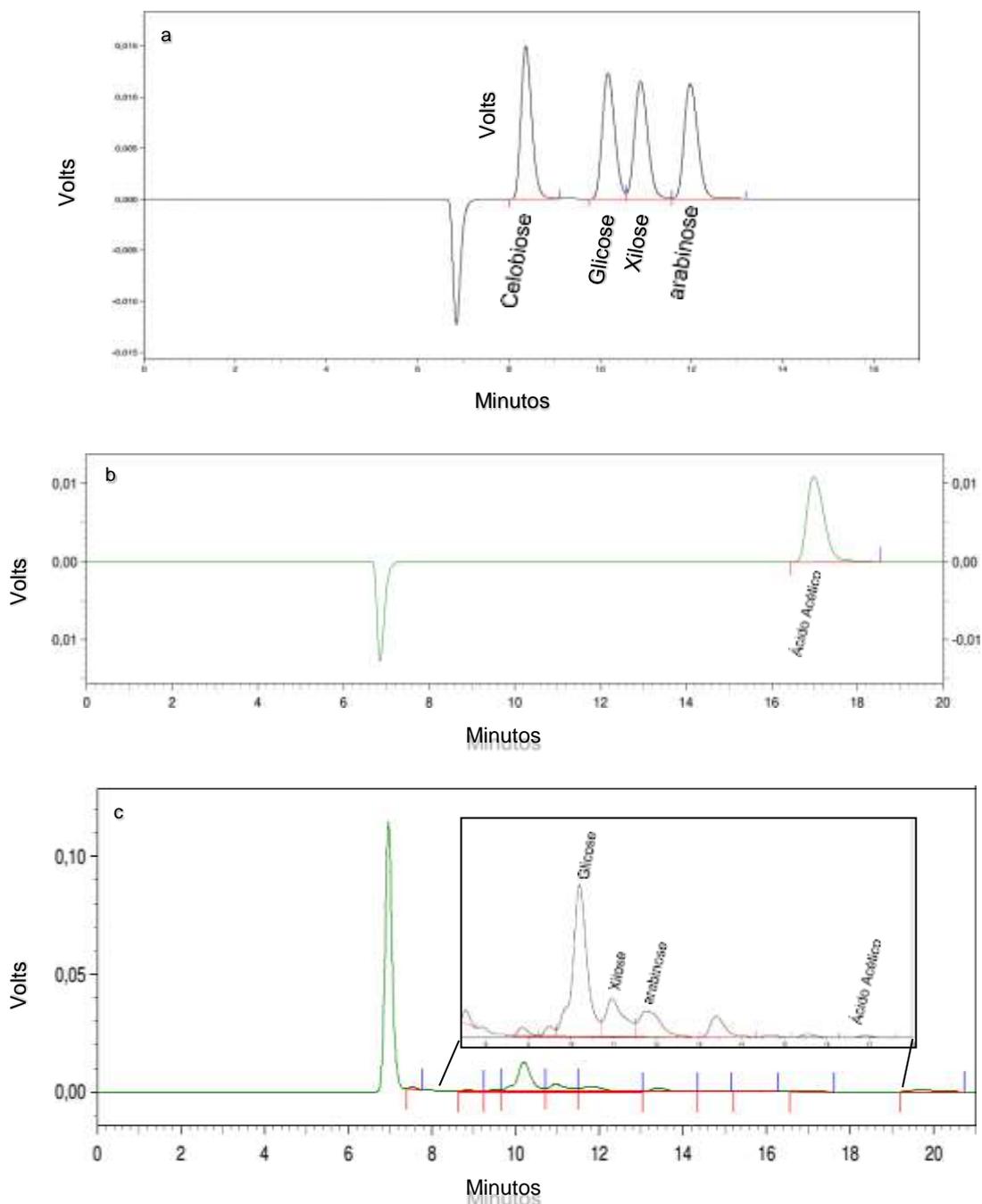
WYMAN, C.E.; BRETHAUER, S. Review: Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production. **Bioresource Technology**, United States, v. 101, n.13, p.4862-4874, 2009.

XIAO, W. et al. The study of factors affecting the enzymatic hydrolysis of cellulose after ionic liquid pretreatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 3, p. 2019–2023, 2012.

ZHAO, X.; ZHANG, L.; LIU, D. Biomass recalcitrance. Part I: The chemical compositions and physical structures affecting the enzymatic hydrolysis of lignocellulose. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 6, n. 4, p. 465–482, 2012.

APÊNDICE A – Cromatogramas de padrões e amostra (ensaio n° 22) de carboidratos e ácido acético.

Cromatogramas obtidos por CLAE, para os padrões de carboidratos (a) e ácido acético (b) e ensaio n° 22 (c). Coluna Phenomenex Rezex ROA-Organic Acid H+ (300 x 7,8 mm), fase móvel 5 mM de ácido sulfúrico em água ultrapura (destilada e deionizada); fluxo de 0,6 mL/min, a 30°C



APÊNDICE B - Cromatogramas de padrões e amostra (ensaio n° 22) de Furfural e HMF

Cromatogramas obtidos por CLAE, para os padrões de inibidores (a) e e ensaio n° 22 (b). Coluna Phenomenex Luna C18 5 μ (2) (250 x 4,6 mm) e pré-coluna Phenomenex C18 (4 x 3,0 mm), fluxo do eluente foi de 1mL/min, a 30°C, comprimento de onda a 276 nm, fase móvel água/acetonitrila 1:8, 1% ácido acético.

