



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

MARTA HELOÍSA MAIRESSE

**POTENCIAL DA BIOMASSA AÉREA DA *Ipomoea batatas* (L.) Lam.
E *Pennisetum purpureum* Schumach CV. NAPIER E CV. ROXO SOB
AÇÃO DE TRÊS COMPLEXOS ENZIMÁTICOS HIDROLÍTICOS
NA PRODUÇÃO DE ETANOL 2G**

PALMAS - TO
2015

MARTA HELOÍSA MAIRESSE

**POTENCIAL DA BIOMASSA AÉREA DA *Ipomoea batatas* (L.) Lam. E
Pennisetum purpureum Schumach CV. NAPIER E CV. ROXO SOB
AÇÃO DE TRÊS COMPLEXOS ENZIMÁTICOS HIDROLÍTICOS NA
PRODUÇÃO DE ETANOL 2G**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Agroenergia da Universidade Federal do Tocantins, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Agroenergia.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Flávia Lucila Tonani de Siqueira

Co-orientador: Prof. Dr. Emerson Adriano Guarda

PALMAS, TO
2015

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

- M228p MAIRESSE, MARTA HELOÍSA.
POTENCIAL DA BIOMASSA AÉREA DA *Ipomoea batatas* (L.) Lam. E
Pennisetum purpureum Schumach CV. NAPIER E CV. ROXO SOB AÇÃO DE
TRÊS COMPLEXOS ENZIMÁTICOS HIDROLÍTICOS NA PRODUÇÃO DE
ETANOL 2G. / MARTA HELOÍSA MAIRESSE. – Palmas, TO, 2015.
70 f.
Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
– Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em
Agroenergia, 2015.
Orientadora : Flávia Lucila Tonani de Siqueira
Coorientador: Emerson Adriano Guarda
1. Etanol 2G. 2. Enzimas de hidrólise. 3. Batata-doce. 4. capim-elefante. I.
Título

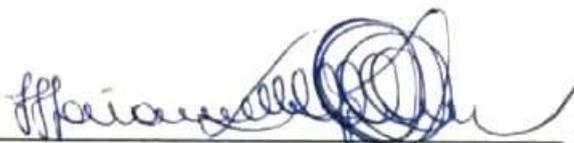
CDD 333.7

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).

**POTENCIAL DA BIOMASSA AÉREA DA *Ipomoea batatas* (L.) Lam. E
Pennisetum purpureum Schumach CV. NAPIER E CV. ROXO SOB AÇÃO
DE TRÊS COMPLEXOS ENZIMÁTICOS HIDROLÍTICOS NA
PRODUÇÃO DE ETANOL 2G**

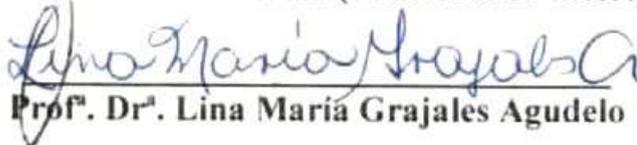
APROVADA EM 05/10/2015



Prof.^a. Dr.^a. Flávia Lucila Tonani (Presidente- UFT)



Prof. Dr. Joênes Mucci Pelúzio (Examinador Interno - UFT)



Prof.^a. Dr.^a. Lina Maria Grajales Agudelo

Àqueles que compartilho a vida, meus filhos

João Pedro, Ester e Saulo Davi.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Nesta página especial desse trabalho, quero agradecer a algumas pessoas, entre tantas, que me ajudaram a realizá-lo.

Agradeço ao Criador que me abre caminhos e neles me sustenta.

A meus pais, Ptolomeu (*in memoriam*) e Terezinha, por terem me trazido à existência e me amparado incondicionalmente.

A meus filhos, cada um de imensurável valor, João Pedro, Ester e Saulo Davi, que alavancam minhas forças e me dão motivação para romper os desafios que a vida sabiamente oportuniza. Sem vocês minha existência não teria cores. Se vocês não tivessem aberto mão da minha presença, por muuuuitos dias, certamente, a conclusão desta etapa não seria possível. Vocês me fazem uma pessoa melhor. Minha eterna gratidão!

À Prof^a Dr^a Flávia Tonani por orientar meus passos na pesquisa científica, pela confiança e incentivo que, em muitos momentos difíceis, me ofereceu, pelo exemplo e tranquilidade que ajudaram a me manter firme na jornada acadêmica.

Ao professor Emerson Adriano Guarda, pela acolhida, oportunidade e contribuições, sem os quais este trabalho não teria se realizado.

Aos membros da banca, Prof. Dr. Joênes Muccio Pelúzio e Lina María Grajales Agudelo por aceitarem o nosso convite para a avaliação deste trabalho e pelas valiosas contribuições.

Ao Prof. Dr. Guilherme Benko de Siqueira pelo apoio e pelas contribuições estatísticas realizadas, prontamente.

Aos amigos que encontrei nos Laboratórios de Química e Microbiologia, que de uma forma incisiva possibilitaram este trabalho, em especial ao professor Donizete, e Cris pela confiança e colaboração.

Aos meus colegas e amigos professores e coordenadores do IFTO de Paraíso do Tocantins que me motivaram durante o mestrado. Agradeço, ainda, aos meus colegas do mestrado e/ou amigos, em especial ao Aécio, Neusa, Abimael, Graziane, Geraldo, Fabrícia, Lara e Roseane pelo apoio e amizade, como a todos aqueles que de uma forma ou de outra contribuíram para que esta jornada fosse concluída.

“ ... se alguém pensa saber alguma coisa, ainda não sabe como convém saber.
Coríntios 8:2

LISTA DE FIGURA

Figura 1 - Principais etapas da produção de etanol lignocelulósico.....	18
Figura 2 - Possíveis aplicações dos três principais componentes.....	20
Figura 3 - A estrutura molecular da celulose (n = grau de polimerização).	21
Figura 4 - Ligações de hidrogênio intermolecular que unem as cadeias de celulose adjacentes para formar as fibrilas; ligações intramoleculares que ajudam.....	22
Figura 5 - Associações de cadeias de celulose formando a fibrila elementar.....	22
Figura 6 - Conjunto de fibrilas formando o arranjo de microfibrila.....	22
Figura 7 - Microfibrila em seção transversal mostrando as fibrilas elementares.	23
Figura 8 - Estrutura da celulose: região cristalina e amorfas.....	24
Figura 9 - Fórmula estrutural dos açúcares e ácidos presentes nas hemiceluloses.....	25
Figura 10 - Estrutura lignocelulósica após processo de pré-tratamento.	27
Figura 11 - Despolimerização da celulose por ação enzimática.....	31
Figura 12 - Rendimento (%) de ART a partir da hidrólise da rama da batata-doce (B), capim-elefante cvs. Roxo (CER) e Napier (CEV), hidrolisada pelos complexos.....	59
Figura 13 - Rendimento potencial de etanol 2G (mL/Kg MS), produzido a partir da rama da batata-doce (B), capim-elefante cvs. Roxo (CER) e Napier (CEV), hidrolisados pelos complexos enzimáticos EC, ECH e EF	60
Figura 14 - Estimativa da produção de etano 2G (mL/L MS) em função do teor de FDN (% MS) da rama da batata-doce (B), capim-elefante cvs. Roxo (CER) e Napier (CEV), hidrolisados pelos complexos enzimáticos EC, ECH e EF.....	61
Figura 15 - Comparação entre a eficiência de hidrólise do complexo enzimático EC e do extrato enzimático obtido a partir de fungo filamentosos EF com o desempenho do complexo enzimático ECH	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Consumo de petróleo internacional (b/d)	15
Tabela 2 - Oferta Interna de Energia referente 2013/2012 (mil tep e %)	15
Tabela 3 - Conteúdo de celulose, hemicelulose e lignina em diferentes resíduos.....	20
Tabela 4 - Teores médios de celulose (C), hemicelulose (H), lignina (L), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN) e matéria seca (MS) da rama da batata-doce	35
Tabela 5 - Teores médios de celulose (C), hemicelulose (H), lignina (L), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN) e matéria seca (MS) de capim-elefante.....	36
Tabela 6 - Comparativo entre enzimas Cellic CTec2 e Cellic HTec2.....	55
Tabela 7 - Concentrações média em ART (g/L) obtidas da hidrólise das biomassas rama da batata-doce (B), capins-elefante cv. Roxo (CER) e cv. Napier(CEV), hidrolisadas pelos complexos enzimáticos EC, ECH e EF	58
Tabela 8 - Teor de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) na composição nas biomassas batata-doce (B), capim-elefante cvs. Roxo (CER) e Napier (CEV).	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ART	Açúcar redutor total
b/d	barril/dia
BG	β -glicosidase
CO₂-eq	CO ₂ -equivalente
cv.	Cultivar
DNS	Ácido 3,5-dinitrosalicílico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Etanol 2G	etanol de segunda geração
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e alimentação (<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>)
FDN	Fibra em detergente neutro
FDA	Fibra em detergente ácido
GLP	Gás Liquefeito de Petróleo
IEA	Agência Internacional de Energia (<i>International Energy Agency</i>)
IBP	Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustíveis
IICA	Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura.
MC	matéria seca
MV	massa verde
MME	Ministério de Minas e Energia
MTBE	Éter metil terciário butílico
OECD	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (<i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>)
OPEP	Organização dos Países Exportadores de Petróleo
ppm	partes por milhão
REN 21	Rede de Políticas de Energias Renováveis para o século 21 (<i>Renewable Energy Policy Network for the 21st Century</i>)
SSF	Fermentação e sacarificação simultâneas (<i>Simultaneous saccharification and fermentation</i>)
tep	tonelada equivalente petróleo
UNCTAD	Conferência das Nações Unidas sobre Comércio e Desenvolvimento (<i>United Nations Conference on Trade and Development</i>)

SUMÁRIO

Introdução Geral	11
Capítulo I: Fundamentação Teórica.....	13
1 O Contexto Energético	14
2 A produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos	17
3 A biomassa lignocelulósica	18
3.1 Celulose	20
3.2 Hemicelulose	24
3.3 Lignina.....	25
3.4 Outros componentes	26
4 Pré-tratamento de materiais lignocelulósicos	27
5 Hidrólise de lignocelulósicos.....	30
6 A batata-doce.....	32
6.1 Características bromatológicas de interesse bioenergético.....	34
7 Capim-elefante.....	35
Referências	37
Capítulo II: Potencial da biomassa aérea da batata-doce (Ipomoea batatas (L.) Lam.) na produção de etanol 2G	50
Resumo	51
Potential of sweet potato biomass and elephant grass 2G in the production of ethanol as a function of three enzymes.....	52
Abstract.....	52
Keywords: renewable energy, lignocellulosic biomass, hydrolysis enzymes	52
1 Introdução.....	53
2 Materiais e métodos.....	54
2.1 Local e tratamentos.....	54
2.2 Parâmetros avaliados	55
2.3 Pré-tratamento	55
2.4 Hidrólise enzimática	56
2.5 Determinação teor de açúcar redutor total.....	57

2.6 Estimativa da produção de etanol.....	57
2.7 Delineamento experimental.....	57
3 Resultados e discussão.....	58
3.1 Concentração de ART (g/L).....	58
3.2 Percentual de ART (g/L).....	59
3.3 Rendimento de etanol.....	60
3.3 Produção etanol em função da FDN.....	61
3.3 Eficiência enzimática.....	62
Conclusão.....	64
Agradecimentos.....	Erro! Indicador não definido.
Referências.....	65

Introdução Geral

Frente à tendência de demanda cada vez maior por energia com esforços para alcançar a segurança energética, tem-se buscado alterações para a estrutura da matriz energética, a fim de obter a energia necessária em quantidade e preços acessíveis para expandir e sustentar a prosperidade aos povos, com o desafio constante de evitar danos ambientais, o que requer grandes esforços voltados à inovação.

Há um consenso de que o desafio energético do século XXI consiste na adoção de medidas como a ampliação da produção de energia sustentável, bem como a adoção cada vez maior de consumo sustentável da energia, este último, por meio de ganhos de eficiência e gestão da inovação. Entretanto, é preciso percorrer o caminho da ampliação e exploração das potencialidades das fontes alternativas de energia (UNCTAD, 2014), com destaque aos biocombustíveis, em especial aos de segunda geração.

A ampliação do escopo energético, associado a conceitos de bioeconomia e a pesquisa e implantação de tecnologias avançadas voltadas aos biocombustíveis, geram perspectivas como a redução dos riscos sociais e ambientais associados à produção e utilização desses produtos, a geração de empregos verdes, a segurança energética e a melhoria global dos rendimentos agrícolas. Com estas expectativas, no final do milênio passado e primeira década do novo milênio, houve um aumento sem precedentes do interesse público e privado para os biocombustíveis, principalmente os líquidos, pois há demanda pelos veículos com motor de combustão convencional, quer em estado puro ou em mistura com combustíveis fósseis. (IEA, 2004).

No contexto meio ambiente-biocombustíveis, conforme a *International Energy Agency* (2004), estudos apontam que alguns biocombustíveis são cada vez mais eficientes do ponto de vista da emissão de CO₂-equivalente (CO₂-eq), com destaque para o etanol obtido a partir da cana-de-açúcar e etanol de segunda geração, obtido a partir de diferentes matérias-primas lignocelulósicas que tem sua estrutura quebrada com exposição de açúcares fermentáveis.

Os processos de obtenção de etanol de primeira geração são consolidados, contudo requerem grande disponibilidade de terras agrícolas para o cultivo das tradicionais espécies com potencial bioenergético. De acordo com a UNCTAD (2008), os biocombustíveis de segunda geração, podem proporcionar um aumento adicional de 50% ou mais na eficiência do uso da terra. Além disso, o saldo líquido de energia, ou seja, a quantidade de insumos de

energia fóssil para cada unidade de energia produzida, também é favorável para os biocombustíveis de segunda geração. E mais, o etanol celulósico é obtido a partir de biomassa não-comestíveis, como materiais lenhosos, gramíneas, resíduos florestais e agrícolas, sem competir com a produção de alimentos e forragem.

Ante o desafio da pesquisa em sugerir alternativas de matérias-primas com potencial bioenergético que se encaixem no atual sistema agrícola e que subsidie a tomada de decisão da assistência técnica, dos produtores rurais, dos responsáveis por polícias públicas e da iniciativa privada, é que a Universidade Federal do Tocantins vem realizando há anos pesquisas com a batata-doce como alternativa de matéria-prima para a produção de etanol amiláceo. Para abrir o leque de informações sobre as possibilidades bioenergéticas dessa cultura, executou-se este estudo com o objetivo de avaliar o potencial do resíduo representado pela parte aérea da batata-doce, bem como, do capim-elefante cv. Napier e cv. Roxo, ante a possibilidade de aproveitamento do excedente da produção dessa biomassa voltada a alimentação animal, em um contexto de aproveitamento de infraestrutura já estabelecida para a produção de etanol 2g,

Capítulo I: Fundamentação Teórica

1 O Contexto Energético

Uma das primeiras formas de energia explorada pelo homem foi o fogo, utilizado na cocção de alimentos e na iluminação, resultado da combustão de biomassas diversas. O domínio dessa forma de energia levou o homem a um novo período antropológico pela exploração dos metais. Até a Revolução Industrial, a biomassa, mais especificamente, a madeira era uma das fontes primárias e a principal fonte de energia empregada pelo homem em suas atividades. Paulatinamente, durante a primeira fase da Revolução Industrial, essa fonte primária de energia foi sendo substituída pelo carvão mineral e, posteriormente, na segunda fase, pela inserção da eletricidade e pelo petróleo e seus derivados (EMBRAPA, 2013).

A partir de então, os combustíveis fósseis têm oportunizado ao mundo uma série de facilidades, como o transporte, a iluminação, o aquecimento, o cozimento, a fabricação e a informação, entre outros, uma vez que contribui para o desenvolvimento global, crescimento econômico e geração de emprego. No entanto, os combustíveis fósseis são finitos e estão sujeitos às instabilidades de preços, incertezas decorrentes de conflitos geopolíticos e também, implicam em elevados custos ambientais. Em contra partida, o mundo demanda cada vez mais por energia, alimentos e ações para mitigar os efeitos das alterações climáticas que acarretam prejuízos sociais e econômicos decorrentes da maior concentração de gases com efeito estufa.

Há um consenso de que o desafio energético do século XXI é evitar danos ambientais sem comprometer o fornecimento da energia necessária em quantidade e a preços acessíveis para expandir e sustentar a prosperidade aos povos. Hoje, um habitante nos Estados Unidos consome, em média, 7 toneladas equivalentes de petróleo por ano (tep/a), um europeu consome 3,4 tep/a com padrão de vida semelhante ao dos Estados Unidos, um chinês consome 1,8, um brasileiro 1,3 tep/a e um indiano ou um queniano cerca de 0,6 tep/a (WORLD BANK, 2013). Segundo a série histórica divulgada pelo Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustíveis - IBP (2015), o consumo de petróleo aumentou no mundo e no Brasil (Tabela 1 -) de modo que atender essa demanda requer grandes esforços voltados à inovação.

Do ponto de vista econômico, ambiental, político e estratégico, é preciso incluir o conceito de consumo sustentável da energia por meio de ganhos de eficiência energética e gestão da inovação. Porém, isso não resolve todos os problemas relacionados a energia que os países enfrentam no momento, tais como os problemas decorrentes de alterações climáticas e à dependência de combustíveis fósseis. Assim, faz-se necessário percorrer o caminho da

ampliação e exploração das potencialidades de fontes alternativas e sustentáveis de energia (UNCTAD, 2014).

Tabela 1 - Consumo de petróleo internacional (b/d)

<u>Ano/consumo</u>	<u>Mundo</u>	<u>Brasil</u>
1965 (mil b/d)	30503,79	306,79
1975 (mil b/d)	53411,39	918,04
1985 (mil b/d)	58008,08	1.240,97
1995 (mil b/d)	68564,81	1.799,24
2005 (mil b/d)	82292,68	2.096,68
2013 (mil b/d)	88358,37	2.972,53
Evolução (%)	289,70	968,90

Fonte: Adaptado de IBP (2015)

O mundo nos últimos 40 anos, apresentou alterações estruturais na matriz energética, com destaque para o incremento da energia nuclear, seguida do gás natural. Já no Brasil houve forte aumento na participação da energia hidráulica e do gás natural. A Tabela 2, traz dados do Ministério de Minas e Energia (MME) (2014), onde a Oferta Interna de Energia (OIE) foi estimada para as diferentes fontes. Nela, verifica-se que a participação das fontes renováveis gira em torno de 40 % e este percentual se mantém para 2015, segundo relatório do MME (2015).

Tabela 2 - Oferta Interna de Energia referente 2013/2012 (mil tep e %)

Fontes	mil tep			Participação %	
	2012	2013	13/12 %	2012	2013
Não-renovável	163.5	174.6	6,8	57,7	59,0
Petróleo e derivados	111.4	116.5	4,6	39,3	39,3
Gás natural	32.5	37.7	15,9	11,5	12,8
Carvão mineral e derivados	15.2	16.4	7,8	5,4	5,6
Urânio e derivados	4.2	3.8	-9,1	1,5	1,3
Renovável	119.8	121.5	1,4	42,3	41,0
Hidráulica e eletricidade	39.1	37.0	-5,4	13,8	12,5
Lenha e carvão vegetal	25.6	24.5	-4,3	9,1	8,3
Derivados de cana-de-açúcar	43.5	47.6	9,3	15,4	16,1
Outros renováveis	11.4	12.3	8,0	4,0	4,2
Total	283.4	296.2	4,5	100,0	100,0

Fonte: Adaptado de MME (2014).

Ainda segundo o MME, a expressiva participação da energia hidráulica e o uso representativo de biomassa na matriz energética brasileira proporcionam indicadores de emissões de dióxido de carbono (CO₂) em torno de 33% menor que a média mundial. Para o cenário mundial, a previsão é de que a emissão de CO₂ relacionada a energia, atingirá quase 950 ppm até 2050, o que é muito acima dos 450 ppm admissíveis, com potencial para aumentar a temperatura média global em 2° C (IEA, 2013). Isso será insustentável do ponto de vista ambiental e económico, sendo necessária a busca de medidas de mitigação para tais problemas, tais como a utilização de fontes de energia renováveis como as biomassas.

A utilização das biomassas para a produção de energia, resulta em redução dos riscos sociais e ambientais, a geração de emprego verde, a segurança energética e a melhoria global dos rendimentos agrícolas. Segundo a EMBRAPA (2015), a Conferência das Partes (COP-20) realizada no Peru em dezembro de 2014 apontou a necessidade de redução de 40% a 70% nas emissões de gases até 2050 para que não se supere os 2°C de aumento na temperatura média do planeta até o final deste século.

Com estas expectativas, no final do milénio passado e primeira década do novo milénio, houve um aumento sem precedentes no interesse público e privado para os biocombustíveis líquidos, pois há demanda pelos veículos com motor de combustão convencional, quer em estado puro ou em mistura com combustíveis fósseis. Apresentam ainda, a vantagem de interagir com a infraestrutura de energia existente no setor dos transportes. E mais, conquistaram outros mercados como o da aviação, da geração de eletricidade, para cozinhar e até mesmo para o transporte marítimo.

Quanto à produção internacional de biocombustível, segundo a FAO (2014), os países que se destacam em ordem decrescente são os Estados Unidos, Brasil, União Europeia, China, Argentina e Malásia. A produção de matérias-primas tende a aumentar na direção das novas fronteiras agrícolas, como em muitos países da África e interior do Brasil, e os primeiros materiais a serem utilizados para a produção de etanol de biomassa quase que certamente não serão culturas energéticas, mas sim resíduos (WYMAN; GOODMAN, 1993).

Quanto ao comércio internacional de matérias-primas, no caso do etanol, este se apresenta modesto, devido as características não-comercializáveis da matéria-prima, como exemplo, a perecibilidade, a dupla finalidade (caso da cana-de-açúcar) e o fator de que os países são tanto produtores de matéria-prima como produtores e consumidores de etanol obtidos a partir daquelas, tornando a produção e a comercialização voltada para o mercado

interno, mais precisamente, para o setor de transporte e outros setores voltados à geração de eletricidade e cozimento (FAO, 2014).

Ao fazer uma comparação entre os biocombustíveis gerados a partir do caldo da cana-de-açúcar ou amido de milho (primeira geração) e os biocombustíveis produzidos a partir de biomassa lignocelulósica que emprega processo de desestruturação da matéria-prima a açúcares fermentáveis (etanol de segunda geração ou etanol celulósico), a FAO (2014), aponta para a eficiência do uso da terra que pode ser adicionada de 50% ou mais a favor dos biocombustíveis de segunda geração, bem como tendem a um balanço energético melhor se comparados aos biocombustíveis de primeira geração. Esta expectativa deve-se aos custos de matérias-primas dos resíduos, que são menores em muitos casos, do que as culturas energéticas (LYND, 2011). Porém, a segunda geração de biocombustíveis líquidos enfrenta obstáculos para alcançar a paridade de custos com outros combustíveis e será preciso a implementação de políticas e avanços tecnológicos adicionais para possibilitar a produção e adoção em larga escala desse combustível (IEA, 2013).

2 A produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos

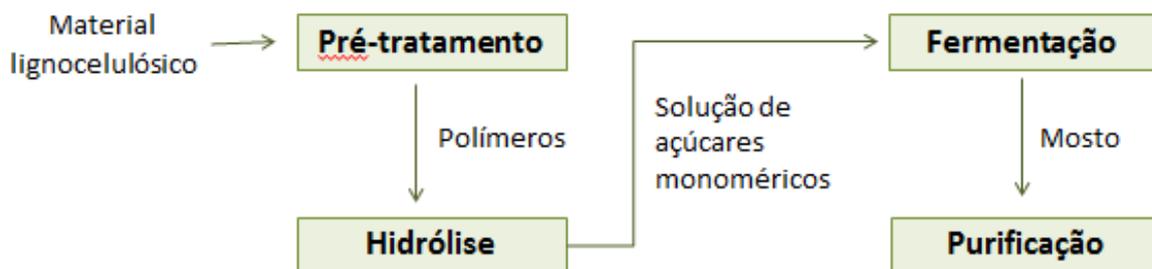
A biomassa lignocelulósica é fonte de carbono não-fóssil mais abundante do planeta (SINGH; MISHRA, 1995, p. 1). Configura-se numa fonte barata de açúcares fermentáveis. Nas últimas décadas, a conversão desse recurso em glucose e outros açúcares redutores foi considerada como uma atraente rota para a produção de etanol ou de outros produtos químicos com valor agregado (CURRELI et al., 1997; GASPAR et al., 2005; citados por IDREES et al., 2014), como exemplo, o ácido láctico (GIRISUTA et al., 2008; HOFVENDAHL; HAHN-HÄGERDAL, 2000).

Para se chegar ao etanol, a partir dessas moléculas contidas nos materiais lignocelulósicos, há necessidade do domínio de tecnologias adequadas que ainda não são completamente desenvolvidas e permanecem complexas e caras.

Basicamente, o processo de obtenção de etanol a partir desses materiais, em geral, consiste em abrir os feixes de lignocelulose, a fim de expor as cadeias de polímeros de celulose e hemicelulose por meio de pré-tratamento. Efetuado o pré-tratamento, o passo seguinte consiste em hidrolisar os polímeros para conseguir soluções de açúcares fermentáveis. Na sequência, promove-se a fermentação desses açúcares pela ação de

microrganismos que, por metabolismo aeróbico, gera etanol, ácido lático e gás carbônico (LIMAYEM & RICKE, 2012). Em seguida, faz-se a purificação da mistura para separação do etanol por destilação/desidratação (LIMAYEM & RICKE, 2012), remoção com vácuo, remoção com corrente de CO₂, remoção por membranas, extração por líquido (CARDONA & SÁNCHEZ, 2007). Tais etapas estão representadas na Figura 1.

Figura 1 - Principais etapas da produção de etanol lignocelulósico.



Fonte: Adaptado de Taherzadeh e Kirimi (2007).

Em nível comercial, os principais resultados no desenvolvimento da tecnologia de produção de etanol à base de celulose, foram iniciados pela empresa de biotecnologia canadense Iogen, em 2004 (MOUSDALE, 2008). O desenvolvimento de tais tecnologias pode ser aplicado em inúmeras fontes lignocelulósicas e a seleção dentre essas fontes é de grande importância do ponto de vista técnico e econômico. Preferencialmente, deve-se fazer uso de materiais de baixo valor comercial, como resíduos agrícolas, florestais, industriais de polpa ou de papel, plantas indesejáveis e gramíneas (GIRISUTA et al., 2008) ou culturas de menor custo de produção. A batata-doce apresenta-se como fonte alternativa de matéria-prima para produção de biocombustível (CASTRO et al., 2008; MOMENTÉ et al., 2004a, b e SILVEIRA, 2008), assim como o capim-elefante, segundo a Embrapa (2015), como resposta à pressão pela adoção de soluções sustentáveis aos problemas energéticos.

3 A biomassa lignocelulósica

A biomassa lignocelulósica é a maior fonte contínua e renovável de carbono-não fóssil na Terra (SINGH; MISHRA, 1995, p. 1) e representa a maior fração da matéria vegetal

compondo a parede celular que envolve e protege a célula, conferindo resistência mecânica e proteção à planta contra fitopatógenos, insetos, herbívoros e intempérias. Tem-se como exemplos comuns de biomassa lignocelulósica, os resíduos agrícolas e florestais, resíduos da indústria de papel e celulose, grande parte da fração orgânica remanescente dos resíduos sólidos urbanos e plantas lenhosas e herbáceas cultivadas como matérias-primas para a produção de combustíveis (WYMAN, 1994).

O material lignocelulósico é formado por tecidos que são constituídos por células com parede celular, cujas formas e tamanhos variam com a espécie de planta e tecido histológico onde está inserida. A integridade destes tecidos depende da parede celular que, em termos de ultraestrutura, é formada pelas diversas camadas compostas por microfibrilas celulósicas orientadas no espaço de forma definida, dependendo da camada. (FENGEL; WEGENER, 1989).

A parede celular possui como principais componentes químico-estruturais a celulose, a hemicelulose e a lignina. Tipicamente, a celulose (polímero de glucose) é a maior fração constituinte da parede celular, da ordem de 35-50%. A fração seguinte, da ordem de 20-35%, é hemicelulose (polímeros predominantemente constituídos de xilose, mas pode ter arobinose, galactose, glucose, manose e outros açúcares e derivados). A terceira fração, é a lignina (polímero de fenilpropeno que não pode ser decomposto a açúcar, conforme Wyman (1994)) da ordem de 7% a 30% (LYND, 1996). Além destes, outros componentes estão presentes em menor quantidade, como: pectina, proteínas, extrativos e cinza (MOHAN; PITTMAN; STEELE, 2006).

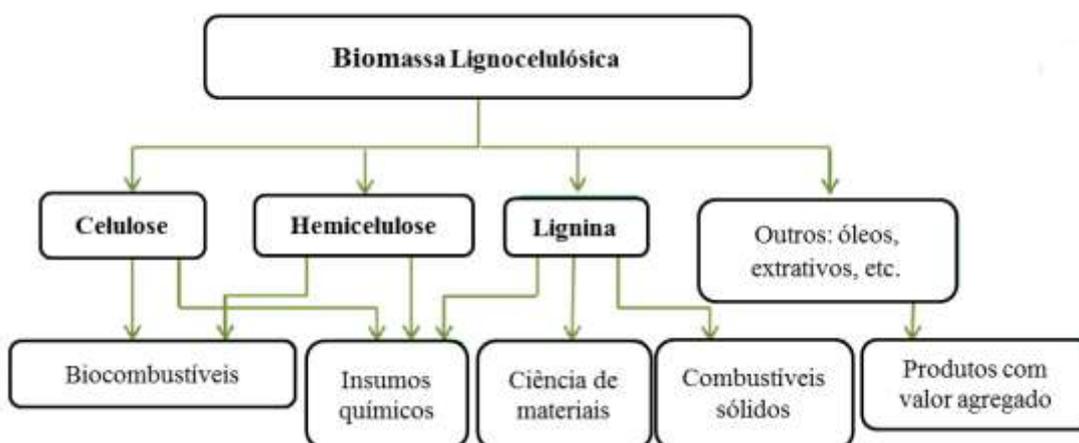
As biomassas apresentam variação na proporção dos componentes entre os materiais lignocelulósicos (celulose, hemicelulose e lignina). Essa composição depende da espécie vegetal de origem, do tecido, da idade da planta, da fase de crescimento e da camada da parede celular (RODRIGUES, 2007). A Tabela 3 exibe a composição lignocelulósica de alguns resíduos agroindustriais que são alternativas bioenergéticas.

Os três principais componentes da parede celular representam substratos que podem ser convertidos em produtos com potencial biotecnológico e, por conseguinte, fornecer benefícios ambientais, econômicos e estratégicos em grande escala, conforme mostra a Figura 2. Entretanto, a estreita associação entre a celulose, hemicelulose e lignina, configuram um desafio às possíveis aplicações. Somente com clareza da química compreendida nas biomassas lignocelulósicos se chegará à quebra da resiliência desses materiais por processos biológicos, tais como a hidrólise enzimática e fermentação (RAMOS, 2003).

Tabela 3 - Conteúdo de celulose, hemicelulose e lignina em diferentes resíduos.

Materiais lignocelulósicos	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)
Sabugo de milho	45	35	15
Gramíneas	25 – 40	35 - 50	10 - 30
Papel	85 – 99	0	0 - 15
Palha de trigo	30	50	15
Lixo sortido	60	20	20
Sementes de algodão	15 – 20	80 - 85	0
Capim bermuda	25	35,7	6,4
Bagaço de cana-de-açúcar	43,8	25,8	22,1

Fonte: Adaptado de Sun e Cheng, (2002) e Rocha, (2009).

Figura 2 - Possíveis aplicações dos três principais componentes.

Fonte: Adaptado de Sun et al.(2010).

3.1 Celulose

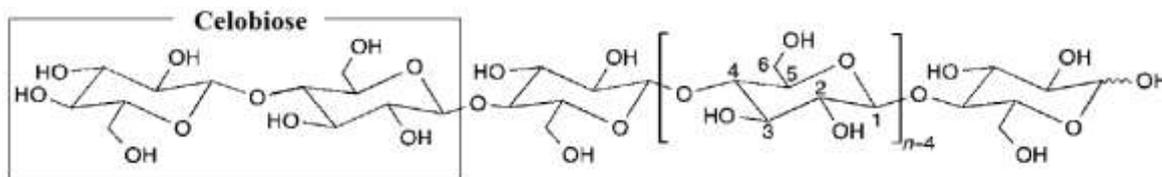
A macromolécula mais abundante da crosta terrestre é a celulose, que é o constituinte básico da biomassa vegetal (GUO et al., 2008; SÁNCHEZ, 2009). Em geral, representa cerca de 35 a 50% do peso seco das plantas e é encontrada quase que exclusivamente na parede celular, mas pode ser produzida por animais (tunicados, por exemplo), algas e algumas bactérias (LYND et al., 2002).

A celulose tem especificidades que determinam a sua química e seu manuseio. As especificidades de arquitetura, reatividade e função são decorrentes de fatores como as interações intermoleculares, o comprimento e distribuição da cadeia molecular, a distribuição de grupos funcionais sobre as unidades que se repetem ao longo das cadeias de polímeros, a elevada rigidez estrutural e a sensibilidade em relação à hidrólise e oxidação da cadeia. (KLEMM et al., 2005).

A estrutura molecular da celulose é gerada a partir de monômeros de D-glucose que se repetem e se unem por ligação do tipo $\beta(1, 4)$ -glicosídica. Essa ligação é caracterizada pela condensação entre as hidroxilas do C1 e C4, liberando uma molécula de água como produto. O resultado das $\beta(1, 4)$ -glicosídica é uma extensa cadeia linear, onde a cada duas unidades estruturais adjacentes, em função da conformação, definem o dissacarídeo celobiose (LEHNINGER, 1985).

O comprimento da cadeia de celulose é expresso pelo número do componente D-glucose e define o grau de polimerização. Este grau pode variar de uma centena a 15.000 unidades de resíduo de glucose e está diretamente relacionado à origem e tratamento da matéria-prima (ZHANG; LYND, 2004). A Figura 3 traz um fragmento da cadeia linear da celulose, onde são observadas as unidades que definem o grau de polimerização, a celobiose e os carbonos envolvidos nas ligações glicosídicas.

Figura 3 - A estrutura molecular da celulose ($n =$ grau de polimerização).

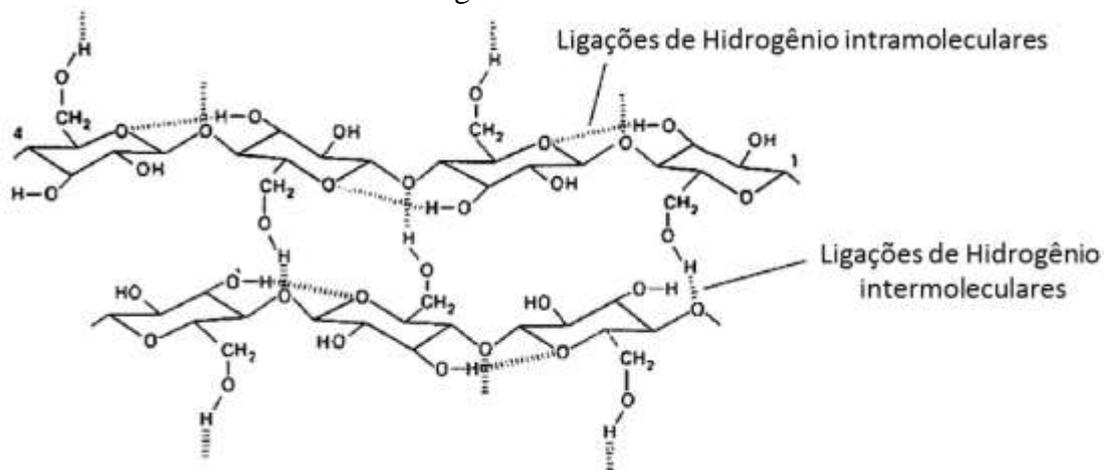


Fonte: Adaptado de Klemm et al., 2005.

As cadeias lineares se unem por meio de pontes de hidrogênio inter e intramoleculares (Figura 4) e forças de van der Waals, criando uma estrutura extremamente organizada na forma de fibrila elementar (primeiro nível de organização) e de microfibrila (segundo nível de organização) (KLEMM et al., 2005).

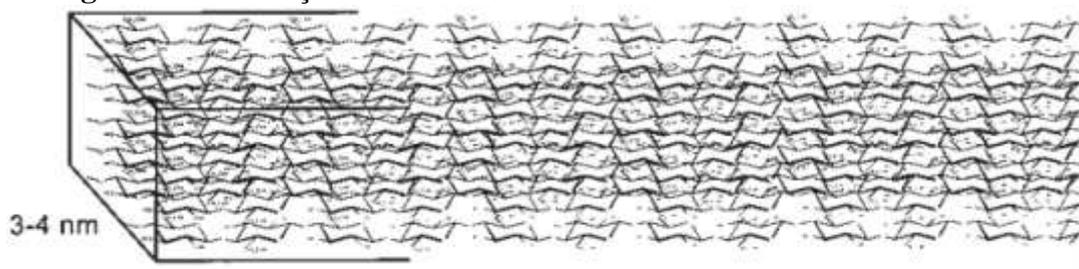
A fibrila elementar é um agrupamento de cerca de 30 a 36 cadeias de glucano agregados lateralmente e resulta na estrutura cristalina da molécula de celulose (ARANTES; SADDLER, 2010) conforme ilustrado na Figura 5.

Figura 4 - Ligações de hidrogênio intermoleculares que unem as cadeias de celulose adjacentes para formar as fibrilas; ligações intramoleculares que ajudam a manter a rigidez da cadeia de celulose.



Fonte: Adaptado de Coughlan, 1985.

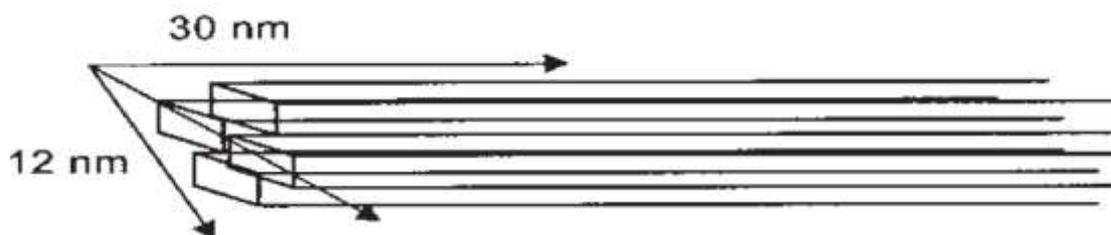
Figura 5 - Associações de cadeias de celulose formando a fibrila elementar.



Fonte: Adaptado de Ramos (2003).

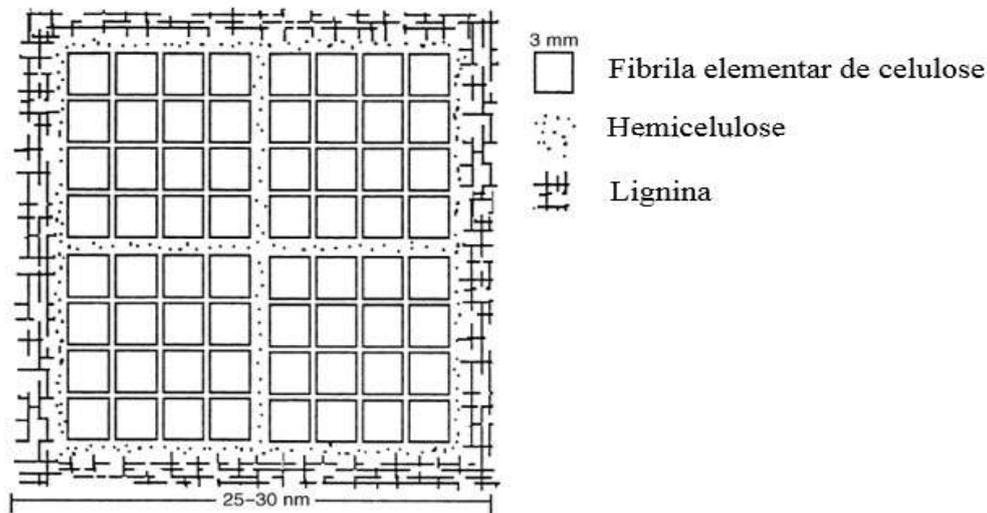
Um conjunto de fibras elementares forma a estrutura supramolecular chamada de microfibrila. Nas Figura 6 e 7 há uma representação de tal arranjo.

Figura 6 - Conjunto de fibrilas formando o arranjo de microfibrila.



Fonte: Adaptado de Ramos (2003).

Figura 7 - Microfibrila em seção transversal mostrando as fibrilas elementares.

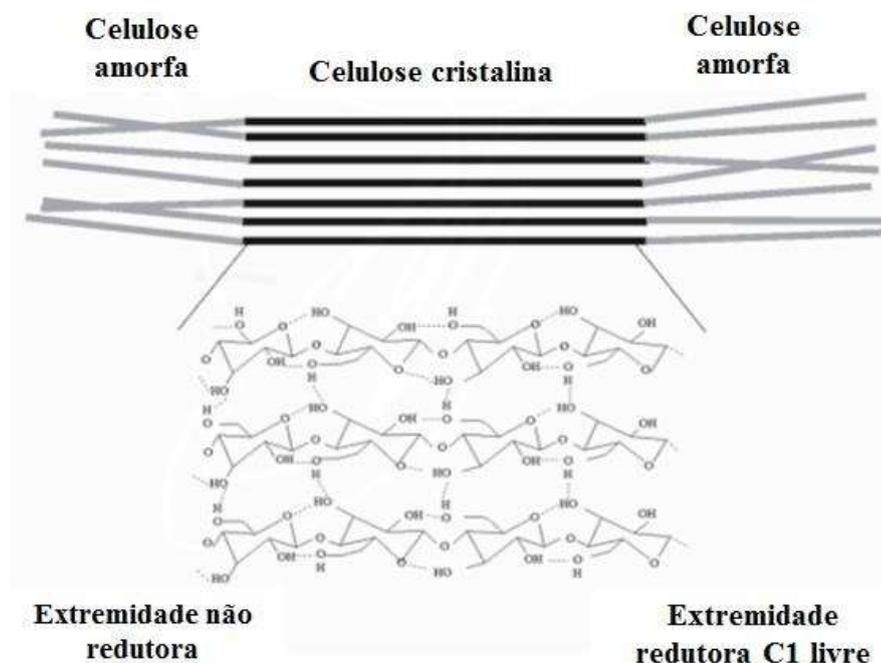


Fonte: Adaptado de Fengel (1971) (apud O'SULLIVAN, 1997, p. 188).

A natureza cristalina da celulose é decorrente da ordem estrutural, onde todos os átomos são fixos em posições distintas em relação um ao outro, e também devido às cadeias componentes das microfibrilas serem agrupadas de forma compacta por ligações fortes, conferindo rigidez e hidrofobicidade à fibra de celulose. A característica cristalina da fibra de celulose dificulta a penetração de enzimas e de moléculas pequenas como a água, limitando dessa forma, a extensão de utilização de substratos lignocelulósicos. (KRÄSSING, 1993).

Embora a celulose forme uma estrutura cristalina distinta, na natureza, a fibra de celulose não é puramente cristalina. O grau de cristalinidade é variável ao longo da fibra. De maneira alternada e regular, a fibra de celulose apresenta zonas com alto nível de organização (cristalinas) e zonas de menor organização (amorfas) como mostra a Figura 8. As regiões amorfas podem absorver água e tornar a celulose mais macia e flexível. (LEHNINGER, 1985).

Figura 8 - Estrutura da celulose: região cristalina e amorfa.



Fonte: Adaptação de Quiroz-Castañeda e Mallo (2013).

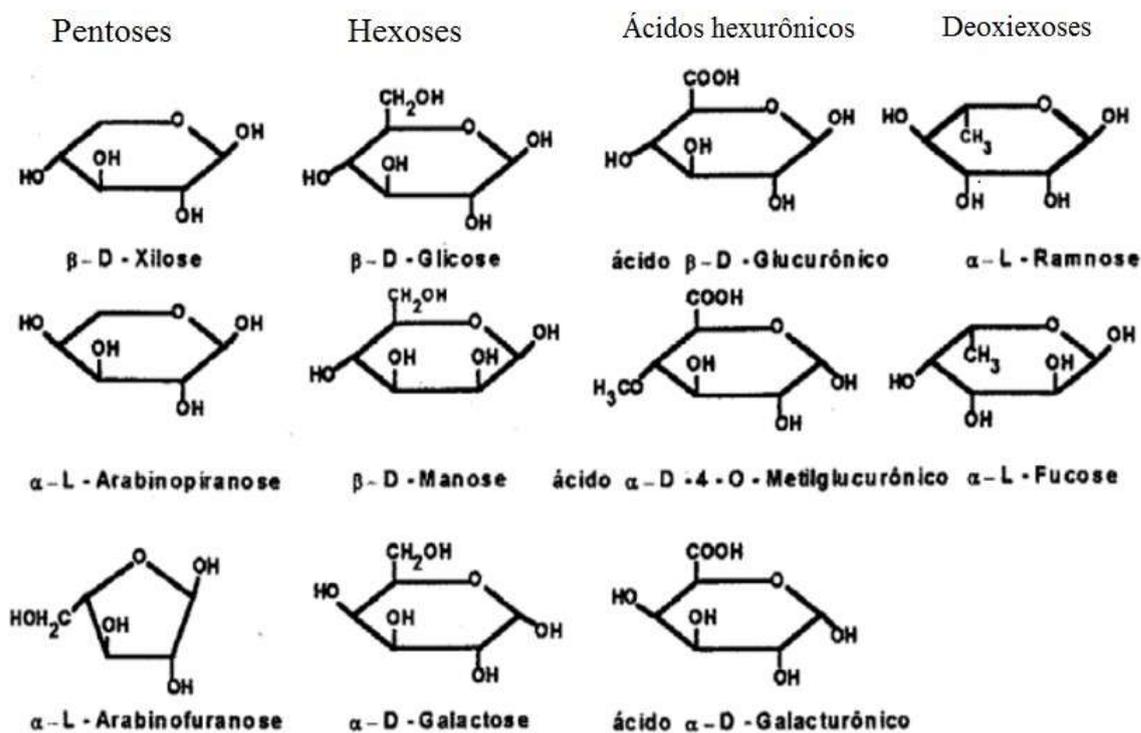
3.2 Hemicelulose

A hemicelulose é o segundo polímero mais abundante (20-35%) da biomassa lignocelulósica ((WYMAN, 1994). Hemicelulose é um termo utilizado coletivamente para se referir a heteropolímeros também chamados de polioses, de cadeia curta e ramificada, apresentando um baixo grau de polimerização se comparado com a celulose, entre 80-200 monômeros (AGBOR et al., 2011; PENG et al., 2012). As hemiceluloses estão estruturalmente associadas a vários componentes, como celulose, proteínas, pectina e lignina. São depositadas na parede celular de vegetais, de forma mais concentrada, nas camadas primária e secundária (SUN et al., 2002). Apresentam variações na composição em função do tecido histológico que faz parte e do tipo de fonte da biomassa (WYMAN, 1994).

Diferentes da celulose como substância química, que contém exclusivamente a unidade fundamental β-D-glucose, as hemiceluloses são polímeros constituídos por açúcares pentoses (xilose e arabinose) e/ou hexoses (glucose, manose e galactose), ácidos urônicos e grupos acetila, representados na Figura 9 (FENGEL; WEGENER, 1989). Para muitos tipos de biomassa lignocelulósica, o açúcar de cinco carbonos xilose é a fração predominante entre os componentes da hemicelulose (RAMOS, 2003). Biomassas agrícolas, como palha e gramíneas

são compostas principalmente de xilano, enquanto hemiceluloses de madeira macia contêm principalmente glucomannan.

Figura 9 - Fórmula estrutural dos açúcares e ácidos presentes nas hemiceluloses.



Fonte: Adaptado de Fengel e Wegener (1989).

As hemiceluloses aderem fortemente à superfície das microfibrilas de celulose via ligações de hidrogênio (ALBERSHEIM et al., 2011), dando estabilidade e flexibilidade ao agregado. Segundo Ramos (2003), estruturalmente as hemiceluloses são mais parecidas com a celulose do que com a lignina e são depositadas na parede celular em um estágio anterior à lignificação. Diferem substancialmente da celulose por serem amorfas. A ausência de propriedade cristalina e de uma estrutura microfibrilar, como ocorre na celulose, torna a hemicelulose geralmente mais reativa do que a celulose (SINGH; MISHRA, 1995; LYND, 1996).

3.3 Lignina

A lignina é o terceiro polímero mais abundante na natureza (AGBOR et al., 2011). Ela envolve como uma rede as microfibrilas formadas pelas cadeias de celulose na parede celular

das plantas vasculares. Encontra-se, especialmente na lamela média, e também ocorre no espaço intersticial entre células vegetais maduras. A fração de lignina na massa vegetal varia de 7% a 30%, sendo que os materiais herbáceos tendem ao limite inferior e as madeiras tendem ao limite superior desta faixa. (LYND, 1996).

A propriedade física mais importante desta macromolécula biológica é a sua rigidez, o que confere força ao tecido da planta e impede o colapso dos elementos em contato com a água (RAMOS, 2003).

A lignina é um heteropolímero amorfo formado por rede de unidades de fenilpropano (p-cumaril, coniferílico e álcool sinapílico) (FENGEL; WEGENER, 1989), por meio de ligações de éter e de carbono-carbono e está ligada a hemicelulose, covalentemente (LYND, 1996). Devido à sua estreita associação com as microfibrilas de celulose, a lignina é tida como o principal impedimento para hidrólise enzimática e microbiana das biomassas lignocelulósicas (ZHU et al, 2008).

No contexto de processo de produção de etanol, a lignina não é biodegradável (LYND, 1996) e precisa ser removida por meio de tratamento prévio para melhorar a digestibilidade da biomassa (AGBOR et al., 2011). Neste contexto, processos de deslignificação são adotados pela indústria de celulose e papel, bem como à nascente indústria de conversão da biomassa lignificada em etanol.

3.4 Outros componentes

Os componentes diferentes de polissacarídeos e lignina que formam a parede celular, não são considerados essenciais à parede celular. Grande parte desses últimos componentes são facilmente removidos da biomassa pelo uso de água ou solventes orgânicos neutros, motivo de serem chamados de extraíveis. Os extraíveis compreendem substâncias oriundas do metabolismo celular, tais como açúcares, compostos aromáticos, ceras, ácidos graxos, resinas, etc.; normalmente estão associados a propriedades da biomassa como cor, odor, sabor e outras. Representam de 2 a 8% da massa total em base seca, contudo esta fração depende do tipo da natureza da biomassa. (CARVALHO et al., 2009).

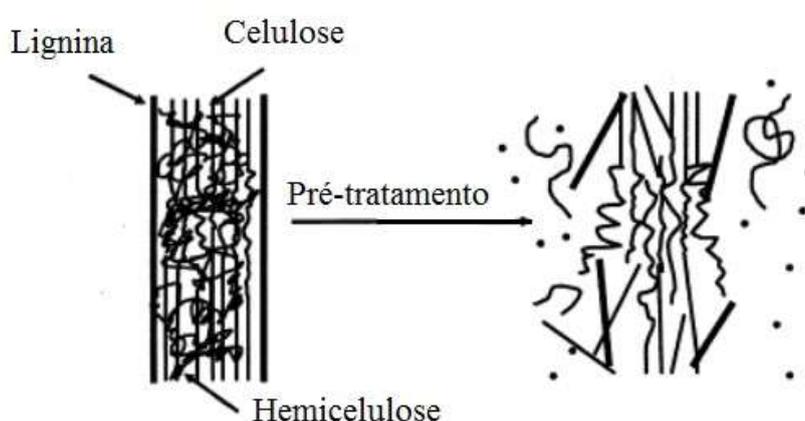
Ainda há na biomassa lignocelulósica, compostos inorgânicos chamados de cinzas. Faz parte desta fração os carbonatos, exalatos e silicatos, que persistem mesmo depois da queima dos materiais em altas temperaturas. (CARVALHO et al., 2009).

4 Pré-tratamento de materiais lignocelulósicos

A transformação da biomassa lignocelulósica em etanol requer a etapa de sacarificação dos polímeros de celulose e hemicelulose que compõem a parede celular, porém estes materiais apresentam recalcitrância que se traduz em impedimentos a degradação dos diferentes substratos lignocelulósicos (WYMAN, 1994). A recalcitrância se deve a características físico-químicas e estruturais do substrato, normalmente associados à presença da lignina, à sua composição e às ligações da lignina com a hemicelulose, à cristalinidade da celulose, à porosidade da superfície disponível e ao grau de polimerização dos polissacarídeos. Dessa forma, surge procedimentos denominados de pré-tratamento, para remover tais impedimentos físicos-químicos e estruturais dos materiais lignocelulósicos, facilitando a hidrólise e aumentando os rendimentos de açúcares fermentáveis oriundos da celulose e da hemicelulose (LYND, 1996; ZHANG; LYND, 2004). Conforme Lynd (1996), tipicamente, os rendimentos teóricos de hidrólise de polissacarídeos a hidratos de carbono fermentáveis, após pré-tratamento, podem exceder 90% do valor teórico, enquanto que na ausência de pré-tratamento, os rendimentos são 20% menores.

O efeito do pré-tratamento sobre a lignina e a estrutura cristalina da celulose, está representado na Figura 10.

Figura 10 - Estrutura lignocelulósica após processo de pré-tratamento.



Fonte: Adaptado de MOSIER et al., 2005

De acordo com Laser e colaboradores (2002), o pré-tratamento é uma das etapas mais caras no processo de conversão de biomassa em açúcares fermentáveis, visto que requer o uso

de produtos químicos e máquinas específicas, como reatores resistentes à corrosão. Ainda, segundo Dale et al. (1996), o alto custo do pré-tratamento associado ao custo da produção de enzimas, é o fator que mais afeta economicamente as biorrefinarias de lignocelulósicos. Logo, a praticidade econômica das alternativas de pré-tratamento requer a avaliação da capacidade de se estabelecer estratégia para a transformação da fração derivada da biomassa em produtos rentáveis (SUN, 2004).

Soma-se a uma avaliação econômica positiva da configuração tecnológica de pré-tratamento, quando essa se integra ao sistema industrial no tocante à co-locação de instalações necessárias para o processo de fabricação (planta), pois a integração reduz o impacto sobre os custos das etapas de processamento a jusante (JEOH, et al. 2007).

Concomitante, a eficiência técnica de um pré-tratamento ideal é alcançada quando o pré-tratamento tem ação sobre uma gama de materiais lignocelulósicos, possibilita a recuperação da maior parte dos componentes lignocelulósicos numa forma utilizável em frações separadas e apresenta exigência mínima de pré-condicionamento dos materiais (tal como a trituração) (AGBOR et al., 2011). Além disso, não produza ou produza quantidade limitada de compostos que inibam a ação de enzimas hidrolíticas, além de apresentar baixo consumo de energia (SUN; CHENG, 2002), ou seja, a eficiência técnica é medida em termos de rendimento, seletividade e funcionalidade, simplicidade operacional e segurança na higiene industrial e ambiental. (ZÚÑIGA, 2010).

O pré-tratamento pode ser de ordem biológica, física e/ou química (MOSIER *et al.*, 2005). São exemplos de pré-tratamento: fragmentação mecânica (SUN; CHENG, 2002), tratamento com ácido diluído (CHEG et al., 2008; BETANCUR; PEREIRA JR, 2010), tratamento alcalino (PARK; KIM, 2012), explosão a vapor (RAMOS, 2003), explosão com amônia (AFEX) (MOSSIER et al., 2005), pré-tratamento hidrotérmico (SAHA et al., 2013), uso de micro-ondas (HU; WEN, 2008), uso de ultrassom (LIU et al., 2009), uso de líquidos iônicos (SUN et al., 2011), métodos biológicos que emprega enzimas oriundas de fungos (FENGEL; WEGENER, 1989), entre outros.

O pré-tratamento combinado inclui a maior parte das tecnologias de pré-tratamento. Compreende métodos físico-químicos, como a explosão a vapor que é o método mais comumente usado para pré-tratamento de materiais lignocelulósicos. Neste método, a biomassa é submetida à alta pressão de vapor saturado e, em seguida, a pressão é rapidamente reduzida, o que provoca a degradação da hemicelulose e da lignina, aumentando assim o potencial de hidrólise da celulose. A adição de H_2SO_4 (ou SO_2) ou CO_2 à explosão a vapor

pode levar a remoção mais completa da hemicelulose, melhorando a hidrólise enzimática. (SUN; CHENG, 2002). Outro adaptação de explosão a vapor é a expansão da fibra com amônia (AFEX), onde se usa a amônia em altas temperaturas e pressão, provocando a degradação da hemicelulose e da lignina (BALS et al., 2010). Quando se usa a explosão com CO₂, esse penetra na estrutura do material lignocelulósico diminuindo a cristalinidade das fibras, devido o seu alto poder de difusão e baixa viscosidade. (LAUREANO-PEREZ, et al., 2005).

O pré-tratamento químico é o mais usual na indústria e é aplicado a diversos materiais lignocelulósicos (AGBOR et al., 2011); pode ser ácido, alcalino ou oxidativo (FENGEL; WEGENER, 1989).

O pré-tratamento ácido, consiste no uso de ácidos, a exemplo do ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido clorídrico (HCl), ácido fosfórico (H₃PO₄) e ácido nítrico (HNO₃), tem-se a hidrólise da hemicelulose, expondo assim, a celulose ao ataque enzimático pós deslignificação (CHENG et al., 2008; RODRIGUES, 2007). O uso dos ácidos apresenta problemas como o potencial corrosivo e a necessidade da recuperação do reagente para dar viabilidade econômica ao pré-tratamento (AGBOR et al., 2011).

No pré-tratamento ácido com soluções diduídas de ácido sulfúrico, hidrolórico ou acético, promovem a decomposição da hemicelulos a determinadas temperaturas. A hemicelulose é separada da celulose e é recuperada na forma de xilose, arabinose e outros monômeros, na fração aproximada de 80 a 90%. Desse processo se obtem a celulignina (celulose mais lignina).

O tratamento alcalino faz uso de NaOH, KOH, Ca(OH)₂, hidrazina e amoníaco anidro (TAHERZADEH; KIRIMI, 2007). Esse tratamento aumenta a área de superfície interna da biomassa e diminui tanto o grau de polimerização, como a cristalinidade da celulose, promovendo o rompimento da estrutura da lignina, que é então removida (deslignificação) e expondo a celulose (AGBOR et al., 2011). A remoção da lignina também pode se dar pela solubilização deste polímero por meio do uso de solventes orgânicos, como o etanol, acetona, etileno e metanol. Livre da lignina, a celulose fica exposta para as etapas de hidrólise e fermentação.

5 Hidrólise de lignocelulósicos

A hidrólise enzimática é uma etapa posterior ao pré-tratamento no processo de produção de etanol lignocelulósico. Os processos de hidrólise podem ser categorizados em químicos e enzimáticos. Os processos químicos usam ácidos (por exemplo, ácido sulfúrico) e os processos enzimáticos usam celulasas (catalizadores de origem proteica, altamente específicos) para converter celulose em açúcares fermentáveis. (LYND, 1996).

Embora os processos dependentes de ácido sejam tecnologicamente mais maduros, os processos enzimáticos tendem a vantagens maiores de custo à medida que a tecnologia é aprimorada, como também, tendem a passivos ambientais menores do que os processos químicos. Atualmente, a projeção dos esforços para a produção em larga escala de etanol celulósico, é em direção à hidrólise enzimática. (LYND, 1996).

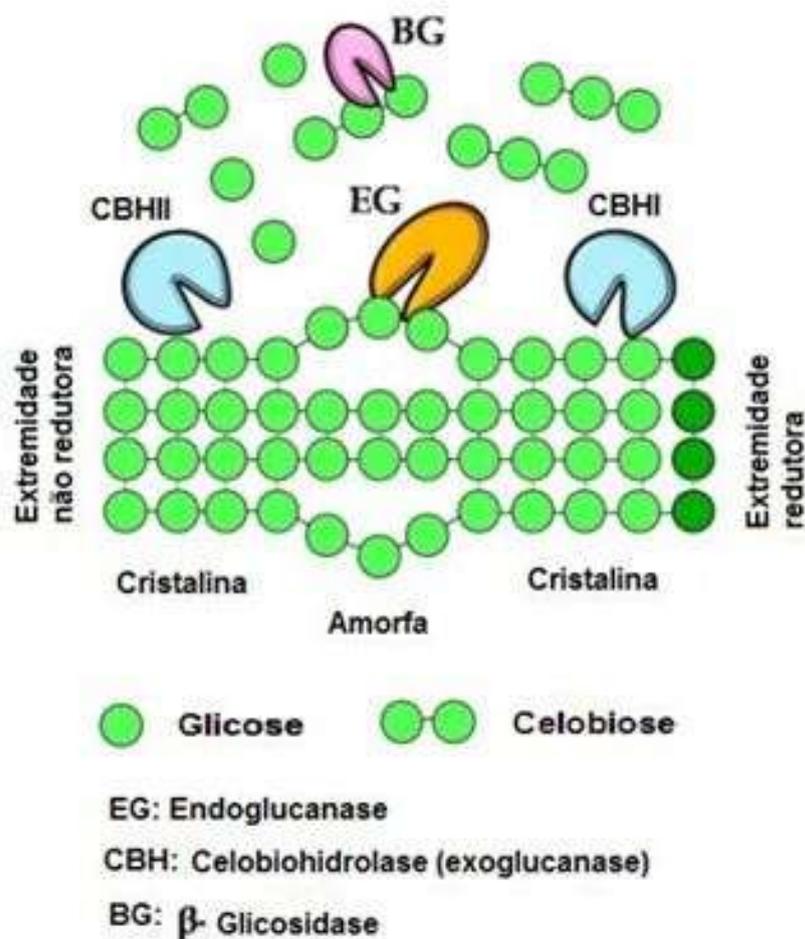
Ambas as alternativas de processos, apresentam vantagens e desvantagens. A hidrólise ácida tem a vantagem de ser uma tecnologia mais consolidada, porém apresenta a desvantagem de ocorrer em tempo muito curto, o que gera dificuldades de controle das reações paralelas indesejáveis. A hidrólise enzimática apresenta potencial a especificidade da reação, ausência de reações secundárias (que levariam à perda de rendimento), ausência da formação de produtos secundários inibidores da fermentação e, por fim, a condição da reação ocorrer em condições suaves (sem uso de altas pressões e temperaturas, ou ambientes corrosivos para os equipamentos). (BARROS; JARDINE, 201_), além disso, os processos enzimáticos tendem a vantagens maiores de custo à medida que a tecnologia é aprimorada, como também, tendem a passivos ambientais menores do que os processos químicos. (LYND, 1996).

A sacarificação enzimática eficiente da celulose a partir de carga de celulase (classificação dada ao grupo de enzimas que atuam sobre a celulose), ainda é um desafio para a bioconversão de lignocelulose em etanol. Uma das principais dificuldades enfrentadas pelas celulasas é seu acesso limitado a maior parte da superfície da celulose, pois a cadeia de celulose está dentro de uma arquitetura fibrilar altamente ordenada e bem embalada em microfibrilas. Os bioprocessos de hidrólise são uma tendência de utilização em larga escala. (ARANTES & SADDLER, 2010).

A hidrólise da celulose é catalisada por um complexo enzimático composto no mínimo por três grupos de celulasas que atuam sinergicamente: endoglucanases, exoglucanases e glucanohidrolases (β -glucosidases). As endoglucanases (EG) clivam aleatoriamente as

ligações internas da região amorfa, liberando oligossacarídeos com terminações redutoras e não redutoras livres. As exoglucanases, subdivididas em celobiohidrolases (CBH I e II), que são responsáveis pela hidrólise dos terminais redutores e não redutores, formando a celobiose; por fim, a β -glucosidases (BG), que hidrolisam a celobiose e oligossacarídeos solúveis de grau de polimerização menor que seis, à glicose (ARANTES & SADDLER, 2010; BINOD, 2011),

Figura 11 - Despolimerização da celulose por ação enzimática.



Fonte: Ratanakhanokchai, 2013 (apud SANTO, 2015, p. 40).

Estudos sugerem que estas regiões inacessíveis podem ser abaladas por proteínas não hidrolíticas (fenômeno chamado de amorfização), aumentando assim a área da superfície da celulose, tornando-a mais acessível para o complexo de enzimático.

Durante a hidrólise de substratos solúveis, ocorrem basicamente os seguintes fenômenos: a adsorção das celulases aos sítios disponíveis no substrato celulósico; formação de um complexo ativo celulases-substrato; hidrólise das ligações glicosídicas do polímero

celulósico; e dessorção do complexo celulásico do substrato hidrolisado (ZHANG & LYND, 2004; TALEBNIA, 2010).

As enzimas podem ser produzidas por fungos como os *Trichoderma reesei* e *Aspergillus niger*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Phanerochaete*, *Humicola*, *Schizophium* sp e/ou por bactérias como *Clostridium cellulovorans*, *Cellulomonas*, *Thermonospora*, *Bacillus*, *Bacteriodes*, *Ruminococcus*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora*, *Streptomyce*. (SARKAR, 2012).

Muitos fatores podem afetar a hidrólise enzimática da celulose, como por exemplo, a concentração de substrato, a atividade da celulase e as condições da reação (temperatura, pH, bem como outros parâmetros). Para melhorar o rendimento e a taxa de hidrólise, é necessário aperfeiçoar o processo e reforçar a atividade das celulasas (SUN & CHENG, 2002). Nas últimas quatro a cinco décadas, muitas pesquisas foram realizadas sobre enzimas capazes de despolimerizar os componentes dos substratos lignocelulósicos, em solúveis açúcares fermentáveis. Entretanto, a eficiente, rápida e completa hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos a partir de baixas cargas de enzimas, ainda é um dos principais gargalos técnico e econômico na bioconversão de lignocelulósicos a biocombustíveis. (ARANTES; SADDLER, 2010).

6 A batata-doce

A batata-doce pertence à família botânica Convolvulaceae, gênero *Ipomoea* e espécie *Ipomoea batatas* (L.) Lam. (SCHULTZ, 1968), tem provável origem no noroeste da América do Sul (HUAMÁN, 1992) de onde se dissipou para outros continentes (PEIXOTO; MIRANDA, 1984). O cultivo dessa planta, especialmente em regiões em desenvolvimento, desempenha papel social e econômico importante com base na utilização como alimento e no potencial de produção por unidade de área (CIP, 201-).

Essa planta é cultivada em 111 países, com aproximadamente 86,8% da produção concentrada na Ásia e outros 10,3% na África. A China é o maior produtor mundial, seguido da Nigéria, Uganda e Indonésia (FAOSTAT, 2015). No Brasil, a batata-doce ocupa aproximadamente, a área de 41,1 mil hectares (IBGE, 2015) e é cultivada, de forma geral, por pequenos produtores, em sistemas agrícolas com reduzido uso de insumos (SOUZA, 2000). A média de rendimento de raízes do país e do mundo é de 12 t/ha (FAOSTAT (2015), muito abaixo do potencial da espécie que, segundo Silva, Lopes e Magalhães (2008) e Castro et al.

(2008a), poderia ser elevada a 22 t/ha, a partir da adoção de tecnologias acessíveis a qualquer nível de produtor.

A Batata-doce tem utilização ampla. As ramas (folhas, hastes e pecíolos) e as raízes tuberosas são empregadas como matéria-prima na alimentação humana e animal, mas sua utilização pode se estender à produção de tecido, papel, cosmético, preparação de adesivos (CARDOSO et al., 2005) e na produção de bioplásticos (CEREDA et al., 2001).

A planta é de fácil cultivo e apresenta características agrônômicas favoráveis que corroboram para o melhor aproveitamento dos recursos tecnológicos direcionados para sua produção. Na sequência, são elencadas algumas dessas características.

A primeira característica se refere a alta taxa de multiplicação da batata-doce, visto que os ramos (conjunto formado por hastes e folhas) depois de destacados de planta madura, tornam-se material propagativo para implantar novo cultivo. Outra característica favorável é o ciclo de produção, que é curto (5 a 6 meses), liberando assim a área para outros cultivos. Apresenta rusticidade de cultivo, o que lhe confere resistência à pragas e possibilita a adaptação a regiões marginais de cultivo (locais sujeitos a déficit hídrico e de menor fertilidade). A planta apresenta boa capacidade de cobertura do solo, o que evita a erosão e o desenvolvimento de plantas espontâneas que competem por água, nutrientes e luz. (CASTRO et al., 2008b; CAO, 2011).

Outra característica favorável para o cultivo da batata, é a grande capacidade de produzir energia por unidade de área e tempo (Kcal/ha/dia) (CARDOSO et al., 2005), o que pode ser atribuído a alta eficiência fotossintética (CASTRO et al., 2008b). Tais propriedades tendem a custos menores de produção e apontam para a batata-doce como uma alternativa bioenergética. Na sequência, a planta é melhor caracterizada.

O biocombustível da batata-doce é obtido, basicamente, pela fermentação do amido contido nas raízes tuberosas que em condições de otimização de processo, pode resultar na concentração de etanol de 135,1 g/Kg de raiz (ZHANG et al., 2010).

Estudos realizados por Gonçalves Neto et al. (2011), demonstram que genótipos selecionados considerados aptos para a finalidade produção de etanol, apresentam potencial competitivo em comparação a cana-de-açúcar atingindo 7.078,4 e 15.484,0 L/ha correspondentes à amplitude 44,8 e 98,0 t/ha de produtividade de raízes, respectivamente. Silveira (2008), obteve resultados com base na produção de 170 L/t de raízes e possibilidade de obtenção de produtividades de raízes na ordem de 40 a 60 t/ha. Conforme o mesmo

pesquisador, o melhoramento genético de cultivares, dobra o índice de produção etílica por hectare da batata-doce quando comparado ao índice de rendimento de etanol da cana-de-açúcar. Atualmente, o rendimento médio de etanol para a cana-de-açúcar é de 7.500 L/ha (NOVA CANA, 2015) e a perspectiva é que se chegue a 13.000 L/ha com hidrólise do bagaço e palha da cana-de-açúcar (UNICA, 201-).

A batata-doce é tradicionalmente cultivada para a produção dos tubérculos e a rama é desperdiçada como um resíduo pouco utilizado (RUIZ; PEZO; MARTINEZ, 1980) e, quando utilizado, é destinada à alimentação animal (ANDRADE et al., 2014; WANG, 2015).

Ensaio de seleção de genótipos para massa verde de batata-doce, visando a produção de silagem, realizado por Azevedo et al. (2015), mostrou que esse critério tende a aumentar o peso médio comercial e total das raízes, inferindo que plantas com ramas maiores tendem a ter raízes também maiores. Ainda, dentre os ensaios voltados para a alimentação animal, há registro de avaliação de rendimento de fitomassa aérea de batata-doce realizado por Cardoso et al. (2005), Castro et al. (2008a), Mota, Silva e Villela (2010), Andrade Júnior et al. (2012) e Azevedo et al. (2015) com rendimentos de massa verde que variaram de 2,7 a 78 t/ha. T tamanha variação do peso de massa verde por unidade de área, segundo Castro et al. (2008a), se deve a influência das condições edafoclimáticas e genéticas sobre o rendimento dos materiais.

6.1 Características bromatológicas de interesse bioenergético

A estimativa da composição bromatológica da biomassa aérea da batata-doce é baseada em ensaios diversos que, entre outros componentes, levaram em consideração o teor de celulose, hemicelulose e lignina em ensaio de avaliação da composição de ramas de batata-doce visando à produção de forragem e/ou silagem. Estes teores são avaliados devido compor o substrato para a produção de biocombustível líquido. Tais dados são apresentados na Tabela 4.

Segundo, Wang (2015), a biomassa de batata-doce tem conteúdo com baixo teor de lignina e altos extrativos. Teores menores que 40 % de FDA é um bom indicativo para alimentação animal (SIMON et al., 2009), daí o uso da parte aérea voltado para a alimentação animal.

Tabela 4 - Teores médios de celulose (C), hemicelulose (H), lignina (L), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN) e matéria seca (MS) da rama da batata-doce.

Fonte	C (%)	H (%)	L (%)	FDA (%)	FDN (%)	MS (%)
CORRÊA, 2013			8,4	39,8	51,9	19,4
ANDRADE et al., 2014	21,8	6,9	12,0	41,7	36,4	25,7
FIGUEIREDO et al. 2012				32,8	36,6	21,6
WANG, 2015	33,0	12,2	7,8			
AREGHEORE, 2004	11,6	15,4	6,8	20,3	39,6	37,3

7 Capim-elefante

Segundo Tcacenco e Botrel (1997), o capim-elefante é originário da África, cultivado em regiões tropicais e subtropicais; introduzido no país em 1920 e se disseminou por todo o território nacional. O nome científico é *Pennisetum purpureum* Schumach, da família Poaceae. É uma monocotiledônea perene, ereta, de altura de até 4,5 m, sistema radicular profundo (ALCÂNTARA; ALCÂNTARA; ALMEIDA, 1980).

O capim-elefante é uma planta explorada de forma comercial há muito tempo, em função da sua eficiência fotossintética (metabolismo C4), caracterizando-a como matéria-prima de potencial energético alternativo.

Essa biomassa apresenta rápido desenvolvimento e alta produção de MS por unidade de área, podendo chegar a 60 t/ha/ano (MOARAIIS et al. 2009; QUESADA et al. 2004; SILVEIRA, 1976). Ainda tem outras características positivas como elevado percentual de fibra, semelhante à cana-de-açúcar (QUESADA et al. 2004); adapta-se, entre outros, aos solos menos férteis, o que o torna menos competitivo por áreas agrícolas voltadas à produção de alimentos (CARVALHO, 2014). Essa biomassa tem potencial para gerar energia calorífica, pois pode apresentar poder calorífico de 4.200 Kcal/Kg o que é maior que o poder calorífico do bagaço de cana-de-açúcar (3.700 Kcal/Kg) e próximo ao do eucalipto (4.641 Kcal/Kg), segundo VILELA (2009).

Conforme EMBRAPA (2015), a inserção do capim-elefante na matriz energética tem papel estratégico, por promover a descentralização da produção de energia, visto que permite a geração de eletricidade e a produção de biocombustíveis em locais onde a construção de hidrelétricas ou o cultivo de biomassas tradicionais não é possível. O capim-elefante pode abastecer caldeiras, gerando vapor que movimenta turbinas e aciona um gerador de

eletricidade, pode substituir a lenha em fornos ou virar lenha ecológica na forma de briquetes ou péletes. Serve ainda, como matéria-prima na geração de etanol celulósico.

O capim-elefante apresenta os teores médios de celuse, hecelulose e lignina conforme Tabela 5.

Tabela 5 - Teores médios de celulose (C), hemicelulose (H), lignina (L), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN) e matéria seca (MS) de capim-elefante.

Fonte	C (%)	H (%)	L (%)
MORAIS et al., 2009	*35,9	*29,2	*4,4
QUESADA et al., 2004	**34,5		**10,2
MACIEL et al., 2009	35,9	29,2	4,4
GONÇALVES et al., 2006	30,9	30,7	8,5

*Adaptado: valores médios entre capins, cultivados em dois tipos de solos.

**Adaptação: valores médios entre folhas e colmos.

Referências

- AGBOR, V. B. et al. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. **Biotechnology Advances**, [s.l.], v. 29, n. 6, p.675-685, nov. 2011. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.05.005. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0734975011000607?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 26 ago. 2015.
- ALBERSHEIM, P. et al. The structural polysaccharides of the cell wall and how they are studied. In: ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A.; ROBERTS, K.; SEDERROFF, R.; STAEHELIN, A. (Ed.). *Plant Cell Walls*. Nova York: Garland Science, 2011, p. 43-66.
- ALCÂNTARA, P.B.; ALCÂNTARA, V.B.G.; ALMEIDA, J.E. Estudos de vinte e cinco prováveis variedades de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Boletim da Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 37, n. 2, p. 279-302, jul./dez. 1980.
- ANDRADE JÚNIOR, V.C. et al. Características produtivas e qualitativas de ramas e raízes de batata-doce. **Horticultura Brasileira**. Vitória da Conquista, v. 30, n. 4, p. 584-589, 2012. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0102-05362012000400004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hb/v30n4/v30n4a04.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2015.
- ANDRADE JÚNIOR VC. et al. Produção de silagem, composição bromatológica e capacidade fermentativa de ramas de batata-doce emurchecidas. **Horticultura Brasileira** 32: 91-97, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hb/v32n1/0102-0536-hb-32-01-00091.pdf>>. Acesso em: 13 ago. 2015.
- ARANTES, V.; SADDLER, J. N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. **Biotechnol Biofuels**, Vancouver, v. 3, n. 1, p.1-4, 2010. Springer Science + Business Media. DOI: 10.1186/1754-6834-3-4.
- ARANTES, V.; SADDLER, J. N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. **Biotechnol Biofuels**, [s.l.], v. 3, n. 1, p.4, 2010. Springer Science + Business Media com.ez361.periodicos.capes.gov.br/content/3/1/4>. Acesso em: 10 jun. 2015.. DOI: 10.1186/1754-6834-3-4. Disponível em: <<http://www-biotechnologyforbiofuels->
- AREGHEORE, E.M. Nutritive value of sweet potato (*Ipomea batatas* (L) Lam) forage as goat feed: voluntary intake, growth and digestibility of mixed rations of sweet potato and batiki grass (*Ischaemum aristatum* var. indicum). **Small Ruminant Research**, [s.l.], v. 51, n. 3, p.235-241, mar. 2004. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0921-4488(03)00198-6. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0921448803001986?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 25 ago. 2015.

AZEVEDO, A.M et al. Desempenho agrônômico e parâmetros genéticos em genótipos de batata-doce. **Horticultura Brasileira.**, [s.l.], v. 33, n. 1, p.84-90, 2015. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0102-053620150000100014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620150000100014>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

BALS, B. et al. Ammonia fiber expansion (AFEX) treatment of eleven different forages: Improvements to fiber digestibility in vitro. **Animal Feed Science And Technology**, [s.l.], v. 155, n. 2-4, p.147-155, fev. 2010. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2009.11.004. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0377840109003459?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 01 set. 2015.

BANSAL, P. et al. Modeling cellulase kinetics on lignocellulosic substrates. *Biotechnology Advances*, [s.l.], v. 27, n. 6, p. 833-848, nov. 2009. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2009.06.005. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0734975009001402?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 07 ago. 2015.

BARROS, T. D.; JARDINE, J. G. Embrapa. **Árvore do conhecimento - agroenergia: Etanol.** (201_). Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fj07rcuq02wyiv802hvm3j2838bue.html>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

BETANCUR, G. J. V.; PEREIRA JR, N. Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I: diluted acid pre-treatment optimization. **Electronic Journal of Biotechnology** (online), v. 13, May 15, 2010. Disponível em: <<http://www.ejbiotechnology.cl/content/vol13/issue3/full/3/index.html>>. Acesso em: 02 set. 2015

BINOD, P. et al. Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass for Bioethanol Production. In PANDEY, A. et al. (Ed.) **Biofuels – Alternative Feedstock and Conversion**. Burlington: Academic Press, 2011, pp. 229-250. ISBN: 978-0-12-385099-7 (© Copyright 2011 Elsevier Inc. Academic Press)

BOUDET, 2003 apud CORREIA, D. da S. et al. **Enzimas oxidativas microbianas envolvidas na biodegradação da lignocelulose:** produção, características bioquímicas e importância biotecnológica. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2011. 40 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 284).

CAO, Y. et al. Simultaneous saccharification and fermentation of sweet potato powder for the production of ethanol under conditions of very high gravity. **Frontiers of Chemical Science and Engineering**, [s.l.], v. 5, n. 3, p.318-324, 11 jun. 2011. Springer Science + Business Media. DOI: 10.1007/s11705-010-1026-3. Disponível em: <<http://link.periodicos.capes.gov.br>>. Acesso em: 11 ago. 2015.

CARDONA, C. A.; SÁNCHEZ, O. J. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 98, n. 12, p.2415-2457, set. 2007. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.01.002. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0960852407000156?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 02 out. 2015.

CARDOSO, A.D. et al. Avaliação de clones de batata-doce em Vitória da Conquista. **Hortic. Bras.**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 911-914, 2005. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0102-05362005000400009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362005000400009>>. Acesso em: 11 ago. 2015.

CARVALHO, G. B. **Caracterização da produção de biomassa de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Shum.) cv. Cameroon, em função da adubação nitrogenada e irrigação em região semiárida**. 2014. 180 p. Tese (Doutorado) – Curso Doutorado em Ciências, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014

CARVALHO, W. et al. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. **Química Nova**, [s.l.], v. 32, n. 8, p.2191-2195, 2009. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0100-40422009000800033.

CASTRO, A. M. de; PEREIRA JÚNIOR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, p. 181-188, 2010.

CASTRO, L. A. S. et al. **Acessos de batata-doce do banco ativo de germoplasma da Embrapa Clima Temperado, com potencial de produção de biocombustível**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008a, p. 23 (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 258).

CASTRO, L. A. S. de.; ROCHA, N. E. M.; ABRANTES, V. L. **Avaliação biológica de viroses em plantas matrizes e mudas de batata-doce (*Ipomoea batatas*)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008b. 12 p. (Embrapa Clima Temperado. Circular técnica, 75).

CEREDA, M.P. et al. **Propriedades gerais do amido**. Campinas: Fundação Cargill, 2001.

CHENG, K. et al. Sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process. **Biochemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 38, n. 1, p.105-109, jan. 2008. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.bej.2007.07.012. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S1369703X07002604?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 01 set. 2015.

CIP – Centro Internacional de La Papa. **Sweetpotato**. Lima: CIP, 2015. Disponível em: <<http://cipotato.org/sweetpotato-1/>>. Acesso em: 02 ago. 2015.

CIP - Centro Internacional de La Papa. **Sweet potato**. Lima: CIP, [201-]. Disponível em: <<http://cipotato.org/sweetpotato-1/>>. Acesso em: 11 ago. 2015.

CORRÊA, A. A. **Caracterização da silagem da rama da batata doce com aditivo**. 2013. 33 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Zootecnia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2013. Disponível em: <http://btd.ufs.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=1171>. Acesso em: 05 ago. 2015.

CORREIA, D. da S. et al. **Enzimas oxidativas microbianas envolvidas na biodegradação da lignocelulose: produção, características bioquímicas e importância biotecnológica**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2011. p.40. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 284).

COUGHLAN, Michael P. The properties of fungal and bacterial cellulases with comment on their production and application. **Biotechnology And Genetic Engineering Reviews**, [s.l.], v. 3, n. 1, p.39-110, set. 1985. Informa UK Limited. DOI: 10.1080/02648725.1985.10647809.

CUSUMANO, C.; ZAMUDIO, N. **Manual técnico para el cultivo de batata (camote o boniato) em la provincia de Tucumán, Argentina**. Tucumán: Ediciones INTA, 2013. p. 48. ISBN 978-987-679-134-2

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Madeira para energia. **Agência Embrapa de Informação Tecnológica**, 2013. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000gcg1gusg02wx5ok0rofsmqn47zi4f.html>>. Acesso em: 17 maio 2015.

_____. **Pesquisa investe em capim como fonte de energia**. 2015. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2422024/pesquisa-investe-em-capim-como-fonte-de-energia>>. Acesso em: 12 set. 2015.

FAOSTAT – Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. **Production share by region**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>>. Acesso em: 02 ago. 2015.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United. The state of the biofuels market: regulatory, trade and development perspectives. **Global Bioenergy Partnership**, 2014. Disponível em: <<http://www.globalbioenergy.org>>. Acesso em: 18 maio 2015.

FENGEL, 1971 apud O'SULLIVAN, C. A. Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose*, v.4, p. 173-207, 1997.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1989. 613 p.

GABRIELII, I et al. Separation, characterization and hydrogel-formation of hemicellulose from aspen wood. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 43, n. 4, p.367-374, dez. 2000. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0144-8617(00)00181-8. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0144861700001818?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 25 ago. 2015.

GIRISUTA, B. et al. Experimental and kinetic modelling studies on the acid-catalysed hydrolysis of the water hyacinth plant to levulinic acid. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 99, n. 17, p. 8367-8375, nov. 2008. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biortech.2008.02.045. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0960852408001892?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 15 jul. 2015.

GONÇALVES A. C. et al. Aptidões de genótipos de batata-doce para consumo humano, produção de etanol e alimentação animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 11, n. 46, p.1513-1520, nov. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v46n11/v46n11a13.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

GONÇALVES, J.S. et al. Composição bromatológica e características fermentativas de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) cv. Roxo contendo níveis crescentes do subproduto da semente do urucum (*Bixa orellana* L.). **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 37, n. 2, p.228-234, 2006.

GRAMINHA, E. B. N. et al. Enzyme production by solid-state fermentation: application to animal nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 144, p. 1-22, 2007.

GUO, R. et al. Molecular cloning and characterization of two novel cellulase genes from the mollusk *Ampullaria crosseana*. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 178, iss. 2, p. 209-215, 2008.

HOFVENDAHL, K; HAHN-HÄGERDAL, B. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources1. **Enzyme and Microbial Technology**, [s.l.], v. 26, n. 2-4, p.87-107, fev. 2000. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0141-0229(99)00155-6. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0141022999001556?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 15 jul. 2015.

HU, Z.; WEN, Z. Enhancing enzymatic digestibility of switchgrass by microwave-assisted alkali pretreatment. **Biochemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 38, n. 3, p.369-378, mar. 2008. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.bej.2007.08.001. Disponível em:

<<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S1369703X07002756?httpAccept=text/xml>>.
Acesso em: 01 set. 2015.

HUAMÁN Z. **Systemic botany and morphology of the sweetpotato plant**. Technical Information Bulletin 25. International Potato Centre, Lima, Peru. p. 22, 1992. Disponível em: <file:///C:/Users/1796933.ifto_local/Documents/Batata/Systematic%20morphology%20sweet%20potato%201999.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2015.

IBGE - Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística. **Produção agrícola municipal**, 2013. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1612&z=t&o=11>>. Acesso em: 15 de fev. 2014.

IBP - Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustíveis. Informações e Estatísticas da Indústria. **Estatísticas Internacionais de Consumo de Petróleo**, 2015. Disponível em: <<http://200.189.102.61/SIEE/dashboard/EstatisticasInternacionaisDeConsumoDePetroleo>>. Acesso em: 26 maio 2015.

_____. Instituto Brasileiro de Petróleo, Gás e Biocombustíveis. **Oferta Interna de Energia: mês de referência: maio de 2015**. Brasília, 2015. 2 p. (Boletim Mensal de Energia). Disponível em: <<http://www.mme.gov.br>>. Acesso em: 08 ago. 2015.

IDREES, M. et al. Production of fermentable sugars by combined chemo-enzymatic hydrolysis of cellulosic material for bioethanol production. **Brazilian Journal Of Chemical Engineering**, [s.l.], v. 31, n. 2, p.355-363, 2014. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/0104-6632.20140312s00002415.

IEA - International Energy Agency. **Biofuels for transport: An International Perspective**. Paris: OECB/IEA, 2004. 216 p.

IEA - International Energy Agency. **Production costs of alternative transportation fuels: Influence of crude oil price and technology maturity**. Paris: OECD/IEA, 2013. 51 p.

JEOH, Tina et al. Cellulase digestibility of pretreated biomass is limited by cellulose accessibility. **Biotechnol. Bioeng.**, [s.l.], v. 98, n. 1, p.112-122, 2007. Wiley-Blackwell. DOI: 10.1002/bit.21408.

KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H. P.; BOHN, A. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, p. 3358-3393, 2005.

KRÄSSING, H. A. Effect of structure and morphology on accessibility and reactivity. In **Cellulose: Structure, Accessibility, and Reactivity**. Volume 11. Edited by Krässig HA. Gordon and Breach Science Publishers; 1993:167-324. (Páginas interrompidas). Disponível em: <<https://books.google.com.br>>. Acesso em: 20 ago. 2015.

LASER, M. et al. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 81, n. 1, p.33-44, jan. 2002. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0960-8524(01)00103-1. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0960852401001031?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 01 set. 2015.

LAUREANO-PEREZ, L. et al. Understanding Factors that Limit Enzymatic Hydrolysis of Biomass: Characterization of Pretreated Corn Stover. **Applied Biochemistry And Biotechnology**, [s.l.], v. 124, n. 1-3, p.1081-1100, 2005. Springer Science + Business Media. DOI: 10.1385/abab:124:1-3:1081.

LEHNINGER, A. L. **Biochemistry, the molecular basis of cell structure and function**. New York: Worth Publishers, 1985, 833 p.

LIMAYEM, A.; RICKE, S. C.. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. **Progress In Energy And Combustion Science**, [s.l.], v. 38, n. 4, p.449-467, ago. 2012. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.pecs.2012.03.002. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0360128512000172?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 02 set. 2015.

LIU, C. et al. Chemical modification of ultrasound-pretreated sugarcane bagasse with maleic anhydride. **Industrial Crops And Products**, [s.l.], v. 26, n. 2, p.212-219, ago. 2007. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.indcrop.2007.03.007. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0926669007000465?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 01 set. 2015.

LYND, L. R. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology**. Reviews, v. 66, p. 506-577, 2002.

_____. Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: technology, economics, the environment, and policy. **Annual Review of Energy and the Environment**, v. 21, p. 403-465, 1996.

MACIEL, R. P.; NEIVA, J. N. M.; OLIVEIRA, R. C.; ARAÚJO, V. L. de; LOBO, R. N. B. Características fermentativas e químicas de silagens de capim-elefante contendo subproduto da mandioca. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 1, p. 142-147, jan./mar. 2008.

MME - Ministério de Minas e Energia. **Resenha Energética Brasileira**: exercício de 2013. Brasília: 2014. 28 p.

MOHAN, D.; PITTMAN, C. U.; STEELE, P. H. Pyrolysis of wood/biomass for bio-oil: a critical review. **Energy and Fuels**, v. 20, p. 848-889, 2006. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ef0502397>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

MOMENTÉ, V.V. et al. Desenvolvimento de cultivares de batata-doce no estado do Tocantins, visando à produção de álcool, como fonte alternativa de energia para as condições tropicais. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, jul. 2004a. Suplemento. CD-Rom.

_____. et al. Seleção de cultivares de batata-doce adaptados à produção de biomassa, via programa de melhoramento, visando à produção de álcool no Estado do Tocantins. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, jul. 2004b. Suplemento. CD-Rom.

MORAIS, R. F. et al. **Elephant grass genotypes for bioenergy production direct biomass combustion**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 44 p. 133-140. Fev. 2009.

MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 96, n. 6, p.673-686, abr. 2005. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biortech.2004.06.025. Disponível em: <[http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0960--852\(4\)0400253--6?httpAccept=text/xml](http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0960--852(4)0400253--6?httpAccept=text/xml)>. Acesso em: 27 ago. 2015.

MOTA J.H; SILVA E.N.C; VILLELA T.G. Seleção de clones de batata-doce na região da Serra de São Vicente-MT. 2010. **Horticultura Brasileira**, v.28: S1524-S1529. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev_4/A2513_T4069_Comp.pdf>. Acesso em: 12 ago. 2015.

NOVA CANA. **Sobre o etanol**. Disponível em: <<http://www.novacana.com/etanol/sobre-etanol/>>. Acesso em: 20 ago. 2015.

MOUSDALE D. M. **Biofuels: biotechnology, chemistry and sustainable development**. Chapter 4.1: the Iogen Corporation process as a template and paradigm. New York: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2008. ISBN 13:978-1-4200-5124-7. Disponível em: <<https://books.google.com.br>> . Acesso em: 10 jul. 2015. (Páginas não consecutivas)

O'SULLIVAN, C. A. Cellulose: the structure slowly unravels. **Cellulose**, v.4, p. 173-207, 1997. Disponível em: <<http://link.periodicos.capes.gov.br>>. Acesso em: 12 jun. 2015.

PARK, Yong Cheol; KIM, Jun Seok. Comparison of various alkaline pretreatment methods of lignocellulosic biomass. **Energy**, [s.l.], v. 47, n. 1, p.31-35, nov. 2012. Elsevier BV. DOI:

10.1016/j.energy.2012.08.010. Disponível em:
<<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0360544212006226?httpAccept=text/xml>>.
Acesso em: 02 set. 2015.

PEIXOTO, N.; MIRANDA, J. F. C. **O cultivo da batata-doce em Goiás**. Goiânia: EMGOPA, 1984, p. 24. (EMGOPA Circular Técnica, 07).

PENG, F. et al. Fractional purification and bioconversion of hemicelluloses. **Biotechnology Advances**, [s.l.], v. 30, n. 4, p.879-903, jul. 2012. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2012.01.018. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com.ez361.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0734975012000316>>. Acesso em: 22 ago. 2015.

QUESADA, DM. et al. **Parâmetros qualitativos de genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum Schum.*) estudados para a produção de energia através da biomassa**. Seropídia: Embrapa Agrobiologia, 2004. 4 p. (Embrapa Clima Temperado. Circular técnica, 8).

RAMOS, L. P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. **Química Nova**, v. 26, p. 863-871, 2003.

RATANAKHANOKCHAI, 2013 apud SANTO, Melissa Espírito. **Otimização de estratégias de pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração via hidrólise enzimática**. 2015. 110 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Física Aplicada Biomolecular, Instituto de Física de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

REN21. **Renewables 2014: Global Status Report**. Paris: Ren21 Secretariat, 2014. (ISBN 978-3-9815934-2-6). Disponível em:
<http://www.ren21.net/Portals/0/documents/Resources/GSR/2014/GSR2014_full_report_low_res.pdf>. Acesso em: 06 ago. 2015.

ROCHA, G. J. M. Metodologia analítica para bagaço e palha de cana. In: WORKSHOP PROGRAMA BIOETANOL, 2009. **Anais...** Brasília: Bioetanol, 2009. CD-ROM.

RODRIGUES, F. A. **Avaliação da tecnologia de hidrólise ácida de bagaço de cana**. 2007. 60 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, 2007.

RUIZ, M.E.; PEZO, D.; MARTINEZ, L. The use of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) in animal feeding. Part 1. Agronomic aspects. **Trop. Anim. Prod.**, 5 (1980), pp. 144–

151. Disponível em: <http://www.fao.org/livestock/agap/frg/TAP52/5_2_7.pdf>. Acesso em 01 ago. 2015.

SAHA, Badal C. et al. Hydrothermal pretreatment and enzymatic saccharification of corn stover for efficient ethanol production. **Industrial Crops And Products**, [s.l.], v. 44, p.367-372, jan. 2013. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.11.025.

SÁNCHEZ, C. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 185-194, 2009.

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

SCHULTZ, A.R. **Introdução ao estudo da botânica sistemática**. 3 ed. Porto Alegre; Globo, 1968. v. 2.

SILVA, J. B. C.; LOPES, C. A.; MAGALHÃES, J. S. **Batata-doce (*Ipomoea batatas*)**. Brasília, DF: EMBRAPA-CNPQ, 2008, n.6. (Embrapa Hortaliças, Sistema de produção). Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Batata-doce/Batata-doce_Ipomoea_batatas/introducao.html>. Acesso em: 27 jul. 2015.

SILVEIRA, A. C. **Contribuição para o estudo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) como reserva forrageira no trópico**. 1976. 242 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu, 1976.

SILVEIRA, M.A. Batata-doce: uma nova alternativa para a produção de etanol. In: Instituto Euvaldo Lodi . **Álcool combustível**. Brasília: IEL, 2008. p.109-122.

SIMON. et al. 2009 apud ANDRADE JÚNIOR, V.C.; PEREIRA, R.C.; DORNAS, M.F.S.; RIBEIRO, K.G.; VALADARES, N.R.; SANTOS, A.A.; CASTRO, B.M.C. 2014. Produção de silagem, composição bromatológica e capacidade fermentativa de ramas de batata-doce emurchedas. **Horticultura Brasileira** 32: 91-97. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hb/v32n1/0102-0536-hb-32-01-00091.pdf>>. Acesso em: 13 ago. 2015.

SINGH, A.; MISHRA, P. Microbial Pentose Utilization: Current Applications in **Biotechnology**. Amsterdam: Elsevier Science B.V. v. 33. p. 396, 1995. ISBN: 978-0-444-82039-6. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/bookseries/00796352/33>>. Acesso em: 10 ago. 2015.

SJÖSTRÖM, E. **Wood chemistry: fundamentals and applications**. 2 ed. New York: Academic Press, 1993. 250 p. (ISBN 0-12-647481-8). (disponível em páginas interrompidas)

SOCCOL, C. R. et al. Bioethanol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 101, n. 13, p.4820-4825, jul. 2010. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.11.067. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0960852409015727?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 31 ago. 2015.

SOUZA, A.B. Avaliação de cultivares de batata-doce quanto atributos agronômicos desejáveis. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v. 24, n. 4, 841-845 p., 2000.

SUN, J. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. **Polymer Degradation And Stability**, [s.l.], v. 84, n. 2, p.331-339, maio 2004. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2004.02.008. Disponível em: <[http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0141-3910\(04\)00045-X?httpAccept=text/xml](http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0141-3910(04)00045-X?httpAccept=text/xml)>. Acesso em: 01 set. 2015.

SUN, N. et al. Where are ionic liquid strategies most suited in the pursuit of chemicals and energy from lignocellulosic biomass? **Chem. Commun.**, [s.l.], v. 47, n. 5, p.1405-1421, 2010. Royal Society of Chemistry (RSC). DOI: 10.1039/c0cc03990j.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 83, n. 1, p. 1-11, maio 2002. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0960-8524(01)00212-7. Disponível em: <<http://api.elsevier.com>>. Acesso em: 14 ago. 2015.

TCACENCO, F.A.; BOTREL, M.A. Identificação e avaliação de acessos e cultivares de capim-elefante. In: CARVALHO, M.M.; ALVIM, M.J.; XAVIER, D.F.; CARVALHO, L.A. (Ed.). **Capim-elefante: produção e utilização**. Embrapa-SPI; Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL, 1997.

TAHERZADEH M.; KIRIMI K. Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. **Bioresources**, 2007. 2(4):707-738.

TALEBNIA, F.; KARAKASHEV, D.; ANGELIDAKI, I. Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 4744-4753, 2010.

UNCTAD - United Nations Conference on Trade and Development. **Biofuel production technologies: status, prospects and implications for trade and development**, Geneva: United Nations, 2008. p.49.

_____- United Nations Conference on Trade and Development. **The state of the biofuels market: regulatory, trade and development perspectives.** Genebra United Nations, 2014. p.101.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-açúcar (São Paulo). **A Sustentabilidade no Setor Sucroenergético Brasileiro.** Disponível em: <<http://www.unica.com.br/sustentabilidade/>>. Acesso em: 10 ago. 2015.

VIANA, D. J. S. et al. Potencial de silagens de ramas de batata-doce para alimentação animal. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 8, p.1466-1471, 2011. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0103-84782011000800027. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782011000800027>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

VILELA, H.; CERIZE, D. **Capim-elefante: paraíso na geração de energia.** 2009. Disponível em: <http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos_capim_elefante_paraíso_producao_energia.html>. Acesso em 10 ago. 2015.

WANG, T. et al. Pyrolytic characteristics of sweet potato vine. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 192, p.799-801, set. 2015. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.05.018. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0960852415006823?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 25 ago. 2015.

WYMAN, C. E. Ethanol from lignocellulosic biomass: technology, economics, and opportunities. **Bioresour.Technol.**, v. 50, p. 3-16, 1994.

WYMAN, C.E, GOODMAN B.J. 1993. Near term applications of biotechnology for fuel ethanol production from cellulosic biomass. In **Opportunities for Innovation: biotechnology**, ed. RM Busche, pp. 151–90. Gaithersburg, MD: Natl. Inst. Stand. Technol. ZHANG, L. et al. Energy-saving direct ethanol production from viscosity reduction mash of sweet potato at very high gravity (VHG). **Fuel Processing Technology**, [s.l.], v. 91, n. 12, p.1845-1850, dez. 2010. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.fuproc.2010.08.009. Disponível em: <http://www.researchgate.net/publication/223715173_Energy-saving_direct_ethanol_production_from_viscosity_reduction_mash_of_sweet_potato_at_very_high_gravity_%28VHG%29>. Acesso em: 12 ago. 2015.

ZHANG, Y. H. P.; LYND, L. R. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulase systems. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 88, n. 7, p. 797-824, 2004.p.

ZHU, L. et al. Structural features affecting biomass enzymatic digestibility. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 99, n. 9, p.3817-3828, jun. 2008. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.07.033. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S096085240700586X?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 26 ago. 2015.

ZÚÑIGA, U. F. R. **Desenvolvimento de um bioprocesso para produção de celulases específicas na cadeia produtiva do etanol de segunda geração**. 2010. 228 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Química) – Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, SP.

Capítulo II: Potencial da biomassa aérea da batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) na produção de etanol 2G

Potencial da biomassa de batata-doce e capim-elefante na produção de etanol 2G em função de três enzimas

Resumo

A geração de energia a partir de biomassa lignocelulósica pode contribuir de maneira significativa com a ampliação do escopo energético, no que se refere ao uso de fontes alternativas voltadas à geração de combustíveis renováveis. Porém, a utilização destas fontes enfrenta ainda desafios relacionados à exploração de diferentes matérias-primas com potencial de utilização e o desenvolvimento de tecnologias de processos que garantam a viabilidade técnica e econômica da geração do etanol 2G. Neste estudo foi estimada a produção de etanol da biomassa aérea da batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) e da biomassa do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach), cv. Roxo e cv. Napier após pré-tratamento ácido e básico, sob hidrólise de dois complexos enzimáticos comerciais (CTec2 e HTec2) e o extrato enzimático obtido a partir de fungo isolado de ninhos de *Acromyrmex balzani*. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos inteiramente casualizados e o arranjo dos tratamentos o Esquema Fatorial 3x3, em três repetições. Foi verificado, para a batata-doce, o rendimento estimado médio de 37,42 mL/Kg de MS hidrolisada com os complexos enzimáticos comerciais e que o capim-elefante, nesse experimento, confirmou seu potencial para ser utilizado na produção de energia renovável, pois apresentou o rendimento médio de 123,5 mL/Kg de MS hidrolisada nas mesmas condições da hidrólise da biomassa aérea da batata-doce.

Palavras-chave: energia renovável, biomassa lignocelulósica, enzimas de hidrólise

Potential of sweet potato biomass and elephant grass 2G in the production of ethanol as a function of three enzymes

Abstract

Power generation from lignocellulosic biomass can contribute significantly to the energy scope expansion, with regard to the alternative sources use focused on the renewable fuels generation. However, the use of these sources still faces challenges related to different raw materials exploration with potential use and technologies processes development that ensure the technical and economic viability of generating 2G ethanol. The aim of this study was to evaluate the ethanol production potential from aerial sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) (B) crop residues compared to elephantgrass materials (*Pennisetum purpureum* Schum), cultivar Roxo and cultivar Napier by the hydrolytic action of three enzyme solutions: two commercial enzymatic complexes (CTec2 e HTec2) and an enzyme extract obtained from filamentous fungi isolated from *Acromyrmex balzani*. The experimental design was the Factorial Scheme 3x3, in triplicate. It was checked on the sweet potato, the average yield of 37.42 mL/kg MS hydrolyzed with commercial enzymatic complexes and the elephantgrass, this experiment confirmed its potential to be used in the renewable energy production, as it presented average yield of 123.5 mL/kg MS hydrolyzed under the same conditions of biomass sweet potato hydrolysis.

Keywords: renewable energy, lignocellulosic biomass, hydrolysis enzymes

1 Introdução

Ampliando o escopo bioenergético, o material lignocelulósico consiste em alternativa interessante de matéria-prima para a produção de combustível, pois é abundante, permanente, subutilizado e, por tanto, tende a custos menores que a biomassa cultivada para o propósito de geração de etanol convencional; seu aproveitamento diminui a competição pelo uso da terra e se trata de um resíduo (não alimento) (Lynd et al., 2002; FAO, 2014).

Neste contexto, inúmeras culturas e resíduos agrícolas podem ser utilizados para este fim, desde que tenham altas produções de biomassa como é o caso do capim elefante, bagaço da cana-de-açúcar e do sorgo sacarino. Segundo dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, divulgados pelo Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura – IICA (2010) a partir do capim-elefante e outras poáceas forrageiras ou árvores de crescimento rápido, são possíveis alternativas competitivas e eficientes para locais onde não se pode cultivar cana-de-açúcar em conformidade com o Zoneamento Agroecológico da cana-de-açúcar (PODER EXECUTIVO, 2009), em áreas marginais, em áreas de cultivo isolado ou consorciado e em áreas implantadas com sistema de integração lavoura-pecuária ou agrosilvipastoril.

A batata-doce representa mais uma alternativa de matéria-prima para produção de biocombustível (Castro et al., 2008; Momenté et al., 2004a, b; Silveira, 2008) como resposta à pressão pela adoção de soluções locais e sustentáveis de energia. É tradicionalmente cultivada para a produção de raízes tuberosas que, por sua vez, são destinadas à alimentação humana e animal ou à produção de etanol amiláceo; a parte aérea da planta, considerada resíduo, é desperdiçada ou subutilizada.

Apesar dos aspectos favoráveis à utilização da biomassa lignocelulósica, o potencial dos biopolímeros ainda não foi plenamente explorado, pois há variações na composição e na associação entre os componentes estruturante desses materiais quanto à celulose, hemicelulose e lignina, o que configura um desafio às possíveis aplicações. O desenvolvimento de processos para a conversão dos materiais lignocelulósicos em combustível e produtos de valor agregado, tornou-se o principal foco e desafio da pesquisa em andamento no mundo todo. (Agbor et al., 2011, Sun et al., 2010).

Nas últimas quatro a cinco décadas, muitas pesquisas foram realizadas sobre enzimas capazes de despolimerizar dos materiais lignocelulósicos (Arantes & Saddler, 2010), isso porque as enzimas desempenham um papel vital na liberação de açúcares que formam a

biomassa à conversão em biocombustível (Ju et al., 2013). Entretanto, a eficiente, rápida e completa hidrólise enzimática de biomassas lignocelulósicas a partir de baixas cargas de enzimas, ainda é um dos principais gargalos técnico e econômico na bioconversão a biocombustíveis.

Postos os desafios, objetivou-se com esse trabalho avaliar as potencialidades energéticas da parte aérea da batata-doce e do capim-elefante cvs. Roxo e Napier, em função da atuação de diferentes enzimas de hidrólise visando à produção de etanol.

2 Materiais e métodos

2.1 Local e tratamentos

O estudo foi conduzido no Laboratório de Química da Universidade Federal do Tocantins (UFT). Foram avaliadas três fontes de biomassa lignocelulósica, parte aérea (ou rama) da batata-doce (B), o capim-elefante cv. Roxo (CER) e cv. Napier (CEV), mediante a ação do emprego de três tratamentos promotores de hidrólise. Dois tratamentos empregaram complexos enzimáticos comerciais (EC) e (ECH) e o um terceiro tratamento, consistiu no emprego de extrato enzimático não comercial obtido a partir de fungo filamentososo (EF) objeto de estudo dessa universidade.

A rama de batata-doce avaliada foi a cultivar Beatriz, obtida do programa de melhoramento genético da Universidade Federal do Tocantins, visando à produção de etanol a partir das raízes tuberosas colhidas aos 180 dias após o plantio. Os capins foram cedidos por produtores da região.

No primeiro tratamento foi empregado o complexo enzimático Cellic® CTec2 batelada VCNI0013; no segundo tratamento foi utilizada a associação dos complexos enzimáticos Cellic® HTec2 batelada VHN00003 e Cellic® CTec2, obtidos a partir de cepas de *Trichoderma reesei*, da empresa Novozymes. O último tratamento consistiu no uso de extrato enzimático obtido a partir de fungo filamentososo que apresentou maior índice de atividade enzimática (IEA), em ensaios de SILVA (2012) onde buscou entre 141 cepas de fungos filamentosos *Leucoagaricus gongylhorus* isolados de ninhos de *Acromyrmex balzani*, linhagens com potencial para utilização no processo de produção de etanol lignocelulósico a partir de bagaço de cana-de-açúcar.

Os complexos enzimáticos Cellic CTec2 e HTec2 convertem material de hidratos de

carbono em açúcares simples antes da fermentação. O produto Cellic CTec2 é uma mistura de celulases agressivas, com alto percentual de β -glucosidase e hemicelulase. O HTec2 contém endoxilânase que tem alta especificidade para a hemicelulose solúvel, além de ter percentual de celulase, dessa forma, ele melhora a hidrólise da celulose. A Tabela 6 apresenta uma comparação entre estas enzimas.

Tabela 6 - Comparativo entre enzimas Cellic CTec2 e Cellic HTec2

Produto	Cellic CTec2	Cellic HTec2.
Especificação e Descrição	<ul style="list-style-type: none"> -Complexo de Celulase para degradar celulose em açúcar fermentáveis -Uma mistura de celulases agressivas, alto percentual de β-glucosidase e hemicelulase 	<ul style="list-style-type: none"> - Endoxilânase com alta especificidade para hemicelulose solúvel. - Percentual de Celulase
Características	<ul style="list-style-type: none"> -Alta eficiência de conversão -Eficiente para alta concentração de sólidos - Tolerante a inibidores -Compatível com vários tipos de biomassa e pré-tratamentos -Alta concentração e estabilidade 	<ul style="list-style-type: none"> - Pode ser combinada com CTec2 para aumentar hidrólise da celulose - Favorável para substrato com pré-tratamento ácido ou alcalino - Converte hemicelulose em açúcares fermentáveis
Benefícios	<ul style="list-style-type: none"> - Até 50% menos de dosagem de enzima 	<ul style="list-style-type: none"> - 20% menos enzima requerida

Fonte: Adaptação de Novozymes

2.2 Parâmetros avaliados

Os parâmetros avaliados foram teores matéria-seca (MS), açúcar redutor total (ART) e teores de celulose, hemicelulose e lignina, fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) conforme Van Soest (1967). Os açúcares redutores foram determinados por meio de espectrofotômetro utilizando ácido 3,5-dinitrosalicílico (reagente DNS) de acordo com o procedimento de Miller (1959). A estimativa de produção de etanol por estequiometria, conforme Finguerut et al. (1985).

2.3 Pré-tratamento

Com o objetivo de facilitar o acesso das enzimas e aumentar os rendimentos de hidrólise, cada biomassa foi submetida a duas etapas de pré-tratamento, na primeira, tratamento ácido e na segunda, tratamento alcalino.

O pré-tratamento ácido foi usado a fim de promover a desorganização da matriz lignocelósica e à separação da hemicelulose da fração celulignina. Pesou-se 3 g de cada amostra que foi submetida à hidrólise ácida utilizando o H_2SO_4 como catalizador na concentração diluída de 1,0 % (v/v em água) e a razão sólido/líquido de 1/10 (grama biomassa/mL solução) em autoclave a 120 °C por 40 min. Em seguida, estas amostras foram lavadas várias vezes com água destilada e as frações sólidas recuperadas por filtração a vácuo e, posteriormente, secas a 60 °C até massa constante. (Lima, 2013).

As amostras de celulignina (resultantes da primeira etapa) foram sujeitas a deslignificação na segunda etapa de pré-tratamento, por meio de tratamento alcalino. Usou-se NaOH na concentração de 4,0% (g/v em água), a razão de sólido/líquido de 1/20 (grama biomassa/mL solução) e mantidas as demais condições em autoclave da etapa anterior. Após, os materiais foram filtrados e as partes sólidas lavadas com água destilada, pesadas, secas a 60 °C por 24 h, para posterior armazenamento em fracos de vidro com tampa. As amostras foram pesadas antes e depois de cada uma das etapas para cálculos do rendimento e perdas durante o pré-tratamento. (Lima, 2013).

2.4 Hidrólise enzimática

Com finalidade de digerir a biomassa para libertar os açúcares fermentáveis, as amostras foram hidrolizadas e, na sequência, a digestibilidade enzimática das biomassas foi determinada através da medição do rendimento da hidrólise do material após pré-tratamento.

O meio reacional consistiu de 0,1 g do substrato, 9 mL do tampão citrato de sódio/ácido cítrico (0,05M, pH=4,8) e 1,0 mL da enzima diluída em tampão citrato de sódio/ácido cítrico (0,05M, pH=4,8) ou extrato enzimático do fungo filamentososo em frascos erlemeyer de 250 mL. As reações enzimáticas se deram em shaker a 48 °C, agitação de 180 rpm, durante 72 horas. A dosagem de Cellic CTec2 foi baseada no teor de celulose contido em cada substrato; foi usado o nível de dosagem correspondente a 6,0% do complexo enzimático por grama de celulose do substrato (esse preparado recebeu a identificação de “EC”). A dosagem do tratamento que associou os complexos enzimáticos foi de 5,4% de Cellic CTec2 e 0,6% de HTec2 por grama de celulose (esse preparado recebeu a identificação de “ECH”). (Novozymes, 2015). A comparação entre estes dois complexos, é apresentada na Tabela 6. O tratamento que utilizou o extrato do fungo filamentososo empregou a relação volume/volume 1/10 do meio reacional e recebeu a identificação de “EF”.

2.5 Determinação teor de açúcar redutor total

Usando curva padrão de glicose, obteve-se a equação que possibilitou a quantificação de açúcar redutor dos substratos.

A curva de calibração foi resultado do procedimento que consistiu no uso de 10 tubos de ensaio (em duplicata) onde foi colocado 1 mL de solução padrão de glicose anidra 1,0 g/L em diluições que variaram de 0,1 a 1 mL, mais de 2 mL reagente DNS. Os tubos contendo as feridas soluções foram levados para banho-maria a aproximadamente 100 ° C por 5 minutos e resfriados até temperatura ambiente, em seguida foi acrescentado 10 mL de água destilada a cada tubo e feita as leituras de absorvância das soluções foi determinada no comprimento de onda de 540 nm em espectrofotômetro HACH DR 5000.

Com as absorvâncias obtidas, gerou-se a equação que permitiu, posteriormente, a determinação do açúcar redutor dos ensaios.

Após a hidrólise, o meio o meio reacional foi centrifugado a 15.000 rpm por 15 minutos e então retirado uma alíquota de 1,0 mL do sobrenadante para teste DNS. A este volume, excetuando a solução de glicose, foi repetido o procedimento empregado para obtenção da curva de calibração. Foi usado um branco reacional sem substrato e sem enzima para determinar as absorvâncias dos ensaios. Os valores obtidos foram convertidos em quantidade equivalente de glicose de cada ensaio, mediante a curva padrão previamente estabelecida.

2.6 Estimativa da produção de etanol

Segundo Finguerut e colaboradores (1985), a estimativa do rendimento de processo fermentativo se deu de forma estequiométrica pela aplicação da equação de Gay – Lussac que, para efeito de cálculo, considera que cada 100 Kg de Açúcar Redutor Total (expressos em glicose) fermentado, produz-se 51,1 Kg de etanol.

2.7 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em Esquema Fatorial 3x3, com três repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias dos tratamentos e dos seus respectivos desdobramentos foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o *software* estatístico "SISVAR" (Ferreira, 2000).

3 Resultados e discussão

3.1 Concentração de ART (g/L)

Houve interação ($p < 0,05$) entre as fontes de biomassas e enzimas para o parâmetro concentração de ART (g/L) conforme pode ser observado na Tabela 7.

Tabela 7 - Concentrações média em ART (g/L) obtidas da hidrólise das biomassas rama da batata-doce (B), capins-elefante cv. Roxo (CER) e cv. Napier(CEV), hidrolisadas pelos complexos enzimáticos EC, ECH e EF.

Biomassa	ART			Média	Média (sem EF)
	EC	ECH	EF		
B	4,743 Ba	4,748 Ba	1,247 Ab	3,579 B	4,745 B
CER	7,003 Aa	8,081 Aa	1,078 Bb	5,387 A	7,542 A
CEV	7,992 Aa	7,560 Aa	1,032 Bb	5,528 A	7,776 A

NOTA: Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A rama de batata-doce foi a fonte de substrato que teve a menor ($p < 0,05$) concentração média de ART (3,579 g/L) independentemente do complexo enzimático utilizado no processo de hidrólise. Considerando que a concentração da fração fibrosa (% FDN) da rama de batata-doce, conforme Tabela 8 é menor, se comparada aos demais capins, era de se esperar que esse substrato resultasse em menor concentração de ART/L, visto que os açúcares redutores totais são produto da hidrólise da fração fibrosa da biomassa.

Tabela 8 - Teor de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) na composição nas biomassas batata-doce (B), capim-elefante cvs. Roxo (CER) e Napier (CEV).

Componentes	Substrato		
	B	CER	CEV
FDN (%)	34,58	65,79	70,85
FDA (%)	26,50	54,14	53,22

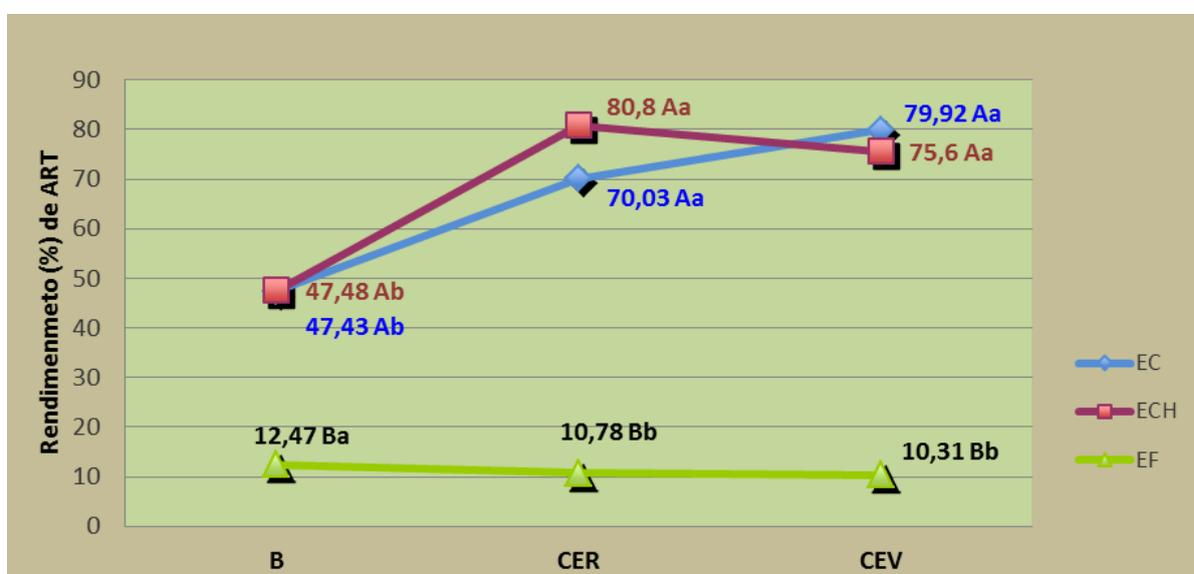
Os capins cv. Roxo e cv. Napier não diferiram entre si ($p > 0,05$); apresentaram concentração média de 7,659 g/L para hidrolisados com as enzimas comerciais (EC e ECH) e concentração média 1,05 g/L sob ação de hidrólise do extrato enzimático obtido de fungo filamentoso (EF). Para efeito comparativo, o teor médio 7,659 g/L de ART obtido com os capins hidrolisados com EC e ECH foram superiores aos resultados encontrados por Pietrobon (2011), para o bagaço da cana-de-açúcar, 6,53 g/L. Também foi superior,

comparado com os dados obtidos por Muniz, Berdet e Silva (2015), que, com o mesmo capim submetido a pré-tratamento alcalino e utilizando celulasas obtiveram, pelo método de 3,5-dinitrosalicílico (DNS), 1,94 g/L de ART. Tal diferença, se deve a muitos fatores que podem afetar a hidrólise enzimática da celulose, como por exemplo, o procedimento utilizado para o pré-tratamento do material (Agbor et al., 2011; Sun & Cheng, 2002 e Zúñiga, 2010), da concentração de substrato, da atividade da celulase e das condições da reação, como temperatura, pH, bem como outros parâmetros (Sun & Cheng, 2002).

3.2 Percentual de ART (g/L)

Quando se avaliou a porcentagem de ART produzidos em relação ao substrato hidrolisado, verificou-se também que houve interação ($p < 0,05$) entre fonte de biomassa e enzimas, conforme demonstrado na Figura 12. Obteve-se um percentual médio de 11,19% de ART, quando a hidrólise foi feita com o extrato enzimático obtido a partir do fungo *Leucoagaricus gongylhorus*, sendo estatisticamente inferior ($p < 0,05$) em relação às enzimas comerciais testadas. A superioridade da atuação das enzimas comerciais para a rama de batata-doce foi de 73,71% enquanto que para os capins 86,23%.

Figura 12 - Rendimento (%) de ART a partir da hidrólise da rama da batata-doce (B), capim-elfante cvs. Roxo (CER) e Napier (CEV), hidrolisada pelos complexos enzimáticos EC, ECH e EF.



NOTA: Médias seguidas da mesma letra maiúscula entre enzimas e minúscula entre biomassa, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para a rama da batata-doce a porcentagem de ART média foi menor ($p < 0,05$) que

que aquela observada para os capins, 47,46 % e 76,58 %, respectivamente, com o uso dos complexos enzimáticos comerciais. No entanto, no substrato rama da batata-doce a atuação do extrato enzimático obtido de fungo filamentososo (EF) garantiu maior %ART (12,46) quando comparado à média dos capins (10,55% ART), muito embora os valores de hidrólise sejam baixos, se considerado os valores obtidos com as enzimas comerciais. A suscetibilidade do substrato à ação enzimática depende das características estruturais do substrato, tais como o grau de cristalinidade e de polimerização da celulose, área de superfície, entre outros fatores inerentes à enzima, como a especificidade pelo substrato e a presença de inibidores (Mcmillan, 1994).

Os ART encontrados por Teixeira et al. (1997) para o colmo do sorgo sacarino e da cana-de-açúcar foram 30,91 e 33,95 (% MS) e com uma estimativa de produção de etanol 66,88 e 54,70 L/t.

3.3 Rendimento de etanol

Quando se estimou o rendimento de etanol (mL/Kg MS) para as diferentes biomassas, a rama de batata-doce hidrolisada com o extrato enzimático obtido de fungo filamentososo (EF) apresentou menor ($p < 0,05$) rendimento que os capins, pois o teor de matéria seca da rama é menor (Figura 13).

Figura 13 - Rendimento potencial de etanol 2G (mL/Kg MS), produzido a partir da rama da batata-doce (B), capim-elefante cvs. Roxo (CER) e Napier (CEV), hidrolisados pelos complexos enzimáticos EC, ECH e EF.

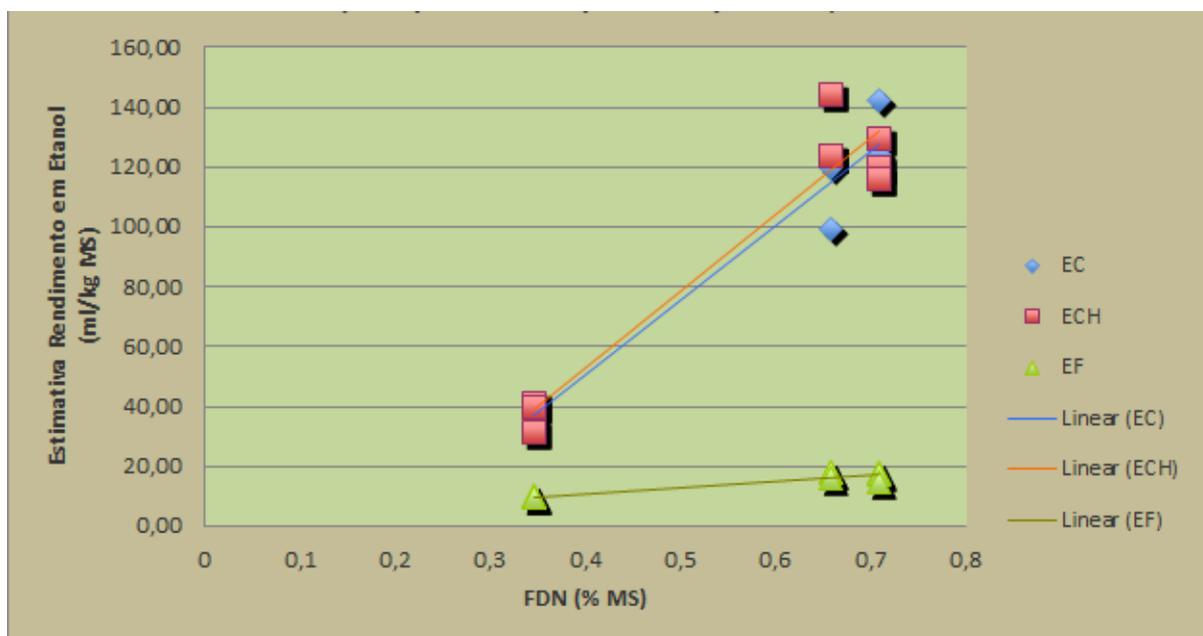


NOTA: Médias seguidas da mesma letra maiúscula entre enzimas e minúscula biomassas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.3 Produção etanol em função da FDN

Na Figura 14 é apresentado o ajuste de regressão linear para prever a potencialidade de produção de etanol 2G a partir do teor de FDN das diferentes fontes de biomassa estudadas neste trabalho, sendo a variável independente o teor de FDN (% MS) e a variável dependente a produção de etanol (mL/kg MS). Observou-se que, para o extrato enzimático do fungo filamentososo, a produção de etanol foi muito reduzida em relação aos tratamentos com os complexos enzimáticos comerciais, sendo que o aumento do teor de FDN na fonte de biomassa não resultou em expressiva variação na produção de etanol, o que pode ser explicado pela baixa efetividade da ação enzimática deste extrato enzimático sobre o substrato. Já para as enzimas comerciais os ajustes de regressão evidenciam uma alta resposta para a produção de etanol em função do aumento do FDN na fonte de Biomassa. Tais resultados demonstram que as concentrações e demais protocolos de diluição e utilização destas enzimas mantiveram a efetividade das mesmas, permitindo que, com o aumento da concentração de FDN, houvesse mais açúcares redutores totais disponíveis para a produção de etanol.

Figura 14 - Estimativa da produção de etano 2G (mL/L MS) em função do teor de FDN (% MS) da rama da batata-doce (B), capim-elefante cvs. Roxo (CER) e Napier (CEV), hidrolisados pelos complexos enzimáticos EC, ECH e EF



Com as enzimas comerciais a rama de batata-doce apresentou um rendimento médio de 37,41 m/Kg MS, sendo 73,72 % superior aquele obtido com extrato enzimático obtido de fungo filamentososo (EF). Estes rendimentos são próximos aqueles obtidos por Usberti Filho et

al. (1988) que variou de 157,3 a 190,4 L/t de MS que, se considerada a produção de MS do capim-elefante variando entre 45 a 60 t/ha/ano, conforme produção verificada por Moraes (2009), resultaria em apreciável quantidade de etanol/ha/ano. Em comparação com a perspectiva de obter 5.500 L/ha de etanol a partir da hidrólise do bagaço e palha da cana-de-açúcar (quantidade desdobrada a partir de dados da UNICA, 201_), o rendimento de etanol 2G dos capins avaliados submetidos às condições de pré-tratamento ácido e básico, seguido de hidrólise com complexos enzimáticos comerciais, representam uma fonte potencial para produção de etanol 2G. Além disso, o capim-elefante pode ser explorado no período de entressafra, contribuindo para o incremento de renda neste período.

Quanto à rama de batata-doce, embora seu rendimento tenha sido baixo, trata-se de um resíduo agrícola, cuja produção de etanol deve ser contabilizada para estimar a produção total de etanol pela cultura. A produção de biomassa de rama de batata-doce obtida por Andrade Júnior et al. (2014), foi de 15,7 t de MS/ha, que pode resultar em um rendimento em etanol de 586,76 L/ha. Quanto ao etanol obtido das raízes tuberosas da batata-doce, Lázari (2011) aponta rendimentos entre 151,67 e 234,33 L/t de raízes. Se considerado o rendimento de 200 L etanol/t raiz e a produção de 60 t raiz/ha (Silveira, 2008), tem-se, aproximadamente, 12.000 L/ha de etanol de raiz de batata-doce. Porém, considerando os resultados do presente estudo de potencial de produção etanol usando a parte aérea da batata-doce, estimou-se o rendimento aproximado de 12.586,76 L/ha de etanol (rama + raízes), em apenas um cultivo, podendo duplicar quando feito dois cultivos no ano.

3.3 Eficiência enzimática

Ainda na Figura 15, são apresentados dados comparativos da eficiência de hidrólise relativa dos complexos avaliados. Tomando como referência o desempenho do complexo comercial ECH (associação de Cellic CTec2 e HTec2), o complexo EC (apenas Cellic CTec2) atuou de forma semelhante nos substratos pré-tratados, de forma que não houve diferença significativa entre ECH e EC. Porém, a eficiência relativa de hidrólise proporcionada pelo extrato enzimático obtido a partir do fungo *Leucoagaricus gongylhorus* (EF) foi de 17,8% comparada ao complexo ECH. O baixo desempenho do extrato EF, pode ser consequente da combinação entre fatores relacionados às enzimas, como a inibição retroativa devida ao acúmulo dos produtos de hidrólise (glucose e celobiose) no meio reacional, à desnaturação térmica das enzimas em reações usualmente muito longas e o efeito da agitação mecânica

(cisalhamento) sobre a atividade enzimática e a concentração enzimática (Kadam et al., 2004; Teymouri et al., 2005).

Figura 15 - Comparação entre a eficiência de hidrólise do complexo enzimático EC e do extrato enzimático obtido a partir de fungo filamentoso EF com o desempenho do complexo enzimático ECH



O extrato enzimático EF está em fase de teste e requer estudos para identificar o real potencial do mesmo na hidrólise da celulose. Na atual situação, pode-se dizer que é inviável o uso de tal extrato, pois aproximadamente, 80% do substrato submetido a hidrólise permanece intacto após este processo.

Conclusão

Os resultados da estimativa de rendimento de etanol a partir da batata-doce, evidenciaram o rendimento de apenas 8,08 % de etanol a partir da MS, contudo se essa produção for somada a geração de etanol a partir das raízes tuberosas, este incremento poderá conferir melhor aproveitamento do uso do solo, insumos e recursos tecnológicos voltados a produção dessa planta com fins energéticos. Já o capim-elefante, nesse experimento, confirmou seu potencial para ser utilizado na produção de energia renovável. Porém, dada a evidente ação das enzimas sobre os substratos, bem como as diferenças de resposta à ação nos diferentes substratos, faz-se necessário ampliar as pesquisas na área da geração de etanol 2G no que tange a hidrólise enzimática, desenvolvimento de métodos analíticos mais rápidos e eficientes para a caracterização das matérias-primas; testes de métodos de pré-tratamento da biomassa, destino de coprodutos e resíduos e pré-análise de viabilidade econômica.

Referências

Agbor, V. B. et al. 2011. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances*. 29: 675-685.

Andrade Júnior, VC; et al. 2014. Produção de silagem, composição bromatológica e capacidade fermentativa de ramas de batata-doce emurchecidas. *Horticultura Brasileira*. 32: 91-97.

Arantes, V.; Saddler, J.N. 2010. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. www.biotechnologyforbiofuels.com/content/3/1/4<Acesso em 08 ago. 2015>

Betancur, G. J. V.; Pereira JR, N. Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I: diluted acid pre-treatment optimization. <http://www.ejbiotechnology.cl/content/vol13/issue3/full/3/index.html><Acesso em 02 set. 2015>

Castro, L. A. S. et al. 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).

FAO - Food and Agriculture Organization of the United. 2014. The state of the biofuels market: regulatory, trade and development perspectives. <http://www.globalbioenergy.org><Acesso em 18 maio 2015>

Finguerut, J. et al. 1985. Estequiometria da fermentação alcoólica a partir do caldo de cana. *Boletim Técnico Opersucar*, São Paulo, Brasil, 33: 45-48.

Gowlett, J. A.j. 2006. The early settlement of northern Europe: fire history in the context of climate change and the social brain. *Comptes Rendus Palevol*. 5: 299-310.

IEA - International Energy Agency. 2013. Production costs of alternative transportation fuels: Influence of crude oil price and technology maturity. Paris: *OECD/IEA*. 51 p.

IICA - Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura. 2010. Biocombustível em foco. Brasília. p. 60 p. Ano II, n. 14.

Ju, X. et al. 2013. Investigating commercial cellulase performances toward specific biomass recalcitrance factors using reference substrates. *Appl Microbiol Biotechnol*. 98: 4409-44201.

Kadam, K.L.; Rydholm, E.C.; Mcmillan, J.d.. 2004. Development and Validation of a Kinetic Model for Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass. *Biotechnol. Prog.* 20: 698-705.

Lázari, T, M. 2011. *Avaliação das características agronômicas e físico-químicas de clones de batata-doce, suas correlações e implicações no rendimento de etanol*. 98f. (Dissertação de Mestrado) – Universidade Federal do Tocantins, Palmas, Brasil.

Lima, M A. de. 2013. *Caracterização bioquímica e biofísica da enzima β -glicosidase Bgl1 de *Aspergillus niger* e avaliação de potenciais biomassas para produção de bioetanol*. 249f. (Tese de Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil.

Lynd, L. R. 2006. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology*. 66: 506-577.

Maldonade, I. R.; Carvalho, P. G. B.; Ferreira, N. A. 2013. Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. Brasília: Embrapa Hortaliças. 4 p. (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 85).

Mcmillan, J.D. 2004. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. In: Himmel, M.E., Baker, J.O., Overend, R.P. (Ed.) *Enzymatic conversion of Biomass for fuels production*. Washington: American Chemical Society. 292-324 p.

Momenté, V.V. et al. 2004a. Desenvolvimento de cultivares de batata-doce no estado do Tocantins, visando à produção de álcool, como fonte alternativa de energia para as condições tropicais. *Horticultura Brasileira*, v.22, n.2, Suplemento. CD-Rom.

_____. et al. 2004b. Seleção de cultivares de batata-doce adaptados à produção de biomassa, via programa de melhoramento, visando à produção de álcool no Estado do Tocantins. *Horticultura Brasileira*, v.22, n.2, Suplemento. CD-Rom.

Morais, R. F. et al. 2009. Produção, qualidade de biomassa e fixação biológica de N em genótipos de capim-elefante destinados à geração de energia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 44: 133-140.

Muniz, A. R.c.; Berdet, G.; Silva, L. da. 2015. POTENCIALIDADE DO CAPIM ELEFANTE PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO. *Anais do Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica - Cobeq Ic 2015*, [s.l.], p.499-504. Editora Edgard Blucher, Ltda.. DOI: 10.5151/chemeng-cobeqic2015-056-32017-263954.

Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31: p. 426-428.

Novozymes, Novozymes Cellic® CTec2 and HTec2 - Enzymes for hydrolysis of lignocellulosic. www.bioenergy.novozymes.com<Acesso em 01 de junho de 2015>

Pietrobon, V.C., et al. 2011. Enzymatic hydrolysis of sugar cane bagasse pretreated with acid and alkali. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 54: 229-233.

PODER EXECUTIVO. Decreto nº 6961, de 17 de setembro de 2009. *Zoneamento Agroecológico da Cana-de-açúcar Para A Produção de Etanol e Açúcar*.

Scott, . Knott, M. 1974. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. *Biometrics*. 30: 507-512.

Silva, F. V. 2012. *Avaliação do potencial celulolítico de fungos filamentosos associados a ninhos de formigas cortadeiras da espécie *Acromyrmex balzani* (Emery, 1890)*. 64f. (Dissertação de Mestrado) – Universidade Federal do Tocantins, Palmas, Brasil.

Silva, G. S. P. 2013. *Concentração de amido e estimativa de rendimento de álcool em batata-doce cultivada com diferentes fontes e doses de potássio*. 51f. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, Brasil.

Silveira, M.A. 2008. Batata-doce: uma nova alternativa para a produção de etanol. In: Instituto Euvaldo Lodi . *Álcool combustível*. Brasília: IEL, 109-122.

Sun, N. et al. 2010. Where are ionic liquid strategies most suited in the pursuit of chemicals and energy from lignocellulosic biomass? *Chem. Commun*. 47: 1405-1421.

Sun, Y.; Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*. 83: 1-11.

Teymouri, F. et al. 2005. Optimization of the ammonia fiber explosion (AFEX) treatment parameters for enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology*. 96: 2014-2018.

Teixeira, C.G.; Jardine, J.G.; Beisman, D.A. 1997. Utilização do sorgo sacarino como matéria-prima complementar à cana-de-açúcar para obtenção de etanol em microdestilaria. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 17:248-251, 1997.

Tolbert, M.E.M.; Bhattacharya, S.; Biswas, P.k. 1986. Enzymic saccharification of cellulose and cellulosic biomass of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) — two-step hydrolysis. *Biomass*. 11:205-213.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-açúcar (São Paulo). A Sustentabilidade no Setor Sucroenergético Brasileiro. 201_. <http://www.unica.com.br/sustentabilidade/><Acesso em 10 ago. 2015.

Usberti Filho, J. A. et al. 1988. Produção de etanol de gramíneas forrageiras tropicais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*, 23: 175-187.

Van Soest, P.J. 1967. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forages. *Journal of Animal Science*. 26:119-128.