



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS DE PALMAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO MESTRADO ACADÊMICO EM
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

POLYANA MORAIS DE MELO

**OTIMIZAÇÃO DO USO DE PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO,
ÁCIDO, LÍQUIDO IÔNICO E OXIDATIVO PARA
CONVERSÃO DE RESÍDUOS DE COCO EM AÇÚCARES
FERMENTESCÍVEIS**

Palmas/TO
2020

POLYANA MORAIS DE MELO

**OTIMIZAÇÃO DO USO DE PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO,
ÁCIDO, LÍQUIDO IÔNICO E OXIDATIVO PARA
CONVERSÃO DE RESÍDUOS DE COCO EM AÇÚCARES
FERMENTESCÍVEIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Foi avaliada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca Examinadora.

Orientadora: Dr^a Magale Karine Diel Rambo

Palmas/TO
2020

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

- M528o Melo, Polyana Morais de.
Otimização do uso de pré-tratamento alcalino, ácido, líquido iônico e oxidativo para conversão de resíduos de coco em açúcares fermentescíveis. / Polyana Morais de Melo. – Palmas, TO, 2020.
70 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2020.
Orientador: Magale Karine Diel Rambo

1. Biomassa. 2. Planejamento experimental. 3. Superfície de resposta. 4. Rendimento de açúcar. I. Título

CDD 664

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).

FOLHA DE APROVAÇÃO

POLYANA MORAIS DE MELO

OTIMIZAÇÃO DO USO DE PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO, ÁCIDO, LÍQUIDO IÔNICO E OXIDATIVO PARA CONVERSÃO DE RESÍDUOS DE COCO EM AÇÚCARES FERMENTESCÍVEIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Foi avaliada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 05 / 05 / 2020

Banca Examinadora

Magale Rambo

Profª. Drª Magale Karine Diel Rambo, UFT

Orientadora

Magale Rambo

Profª. Drª. Caroline Roberta Freitas Pires, UFT

Magale Rambo

Prof. Dr. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas, UFLA

Palmas, 2020

Minha filha, Ávila Manuella.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades, me proporcionado chegar até aqui, com persistência e fé.

À minha família, meus pais, esposo, irmãos e sobrinhas por acreditar na minha capacidade. Mãe, seu cuidado e dedicação foi que me deram, em alguns momentos, a esperança para seguir. Pai, sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinho nessa caminhada. Meu irmão, minha irmã e sobrinhas, que nos momentos de minha ausência, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente!

Ao meu esposo amado Marcos Cione, pelo companheirismo, paciência, que por muitas vezes me acalmou nos momentos difíceis durante essa trajetória. Nossa filha Ávila Manuella.

A Universidade Federal do Tocantins – UFT, através da Coordenação do Programa de Pós-Graduação de Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), pela oportunidade de alcançar o título de mestre do mesmo. E aos professores, por transmitirem seus conhecimentos, ajudando na formação acadêmica e nas pesquisas que desenvolvi durante o mestrado.

Agradecimento especial à minha orientadora Prof^a Dra. Magale Rambo, pelo auxílio durante a realização deste trabalho, disponibilidade de tempo no conhecimento compartilhado, sempre com uma simpatia contagiante e pelo fornecimento de material para pesquisa do tema.

Aos amigos e colegas do laboratório de química, em especial a Rachel, que além de técnica foi uma amiga. Agradeço também ao Claudio Santana, que por muitas vezes me ajudou em análises do nosso grupo de pesquisa. Agradeço pela colaboração e ajuda ao longo dessa subida, bem como pelas conversas e risadas do dia- a dia.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte do êxito desse trabalho e da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O coco (*Cocos nucifera L*) é um fruto de suma importância para a indústria alimentícia, embora seu processamento gere grandes quantidades de resíduos. Para minimizar esse problema, o resíduo que consiste das cascas de coco verde, abundante e renovável, tem provocado um interesse crescente na produção de açúcares fermentescíveis. O presente estudo tem por objetivo avaliar o efeito das condições de quatro diferentes pré-tratamentos na estrutura da biomassa residual da casca de coco para a maximização da conversão nesses açúcares. A otimização foi realizado de acordo com o planejamento Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 2², variando as condições experimentais de tempo e temperatura, respectivamente de cada pré-tratamento, peróxido (2,59 -5,41 h) e (33,79- 76,21 °C) , alcalino (0,59 - 3,41 h) e (33,79 - 76,21 °C) e ácido(0,29-1,71 h) e (105,86- 134,14 °C), para o pré-tratamento com Líquido Iônico(LI) foi realizado com os seguintes condições (2 h ; 100 °C; 4 h ,120 °C ; 6 h, 140 °C) para a obtenção altos rendimentos de açúcares e remoção da lignina total, por meio de metodologia de superfície de resposta (RSM). A produção de açúcar (70%) com maior rendimento consistiu quando o resíduo de casca de coco foi submetido a pré-tratamento alcalino por 2 horas a 76,21 °C, um aumento considerável considerado a biomassa bruta (32,2%). A maior taxa de deslignificação foi registrada quando soluções de peróxido de hidrogênio (55 °C e 4 h) e alcalinas (70 °C e 3 h) foram utilizadas. O pré-tratamento ácido permitiu a produção de açúcar razoável (58,1%) e considerável aumento do teor de lignina (44,1%). O Líquido Iônico (LI) não aumentou os teores de açúcares. Ao final dos processos, as biomassas pré-tratadas foram caracterizadas por Difração de Raios-X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), para assim verificar o efeito dos diversos pré-tratamentos na estrutura interna da biomassa lignocelulósica. A DRX, MEV e FTIR realizadas nos pré-tratamentos estão de acordo com a composição química da biomassa, com alterações na estrutura após a aplicação dos pré-tratamentos adotados. A cristalinidade da biomassa aumentou com base na severidade do pré-tratamento, seguindo a ordem dos seguintes tratamentos: alcalino> peróxido> LI> ácido.

Palavras-chave: Biomassa. Planejamento experimental. Superfície de resposta. Rendimento de açúcar. Remoção de lignina.

ABSTRACT

Coconut (*Cocos nucifera* L) is a very important fruit for the food and chemical industries, although its processing generates large amounts of waste. To minimize this problem, the waste consisting of green coconut shells is abundant and renewable, and its use has provoked a growing interest in the production of fermentable sugars. The present study aims to evaluate the effect of the conditions of four different pretreatments on the structure of the residual biomass of the coconut shell to maximize the conversion to these sugars. The optimization was carried out according to the DCCR 22 planning, varying the experimental conditions of time and temperature, respectively of each pre-treatment, peroxide (2.59 -5.41 h) and (33.79- 76.21 ° C), alkaline (0.59 - 3.41 h) and (33.79 - 76.21 ° C) and acid (0.29-1.71 h) e (105.86 - 134.14 ° C), for pretreatment with Ionic Liquid (LI) was carried out with the following conditions (2 h; 100 ° C; 4 h, 120 ° C; 6 h, 140 ° C) for reducing sugars production and total lignin removal after acid hydrolysis by Response Surface Methodology (RSM). The highest yielding sugar yield (70%) was when the coconut shell residue underwent alkaline pretreatment for 2 hours at 76.21 °C, a considerable increase considering the gross biomass (32.2%). The highest lignin removal rate was recorded when hydrogen peroxide (55 °C and 4 h) solutions and alkaline (70 °C and 3 h) were used. Acid pretreatment allowed for reasonable sugar (58.1%) production and considerable increase in lignin content (44.1%). The Ionic Liquid (IL) did not increase the sugar contents. At the end of the processes, the pretreated biomasses were characterized by X-ray diffraction (XRD), Scanning Electron Microscopy (SEM) and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), to verify the effect of the various pretreatments on the structure of the lignocellulosic biomass. The XRD, SEM and FTIR performed in the pre-treatments are in agreement with the biomass chemical composition, with changes in the structure of the after the application of the pre-treatments adopted. Biomass crystallinity increased based on pre-treatment severity, following the order of the following treatments: alkaline> peroxide> IL> acid.

Key words: Biomass. Experimental Design. Response Surface. Sugar Yield. Lignin Removal.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1- Representação esquemática dos procedimentos experimentais..... | 18 |
| Figura 2- Amostra de coco utilizada nos processos..... | 20 |
| Figura 3- Biomassa de coco após pré-tratamento peróxido de hidrogênio (Experimento 1) ... | 23 |
| Figura 4- Biomassa de coco após o pré-tratamento alcalino (Experimento 6) | 24 |
| Figura 5- Desconstrução da estrutura lignocelulósica pelo pré-tratamento | 24 |
| Figura 6- Biomassa de coco após o pré-tratamento com LI (100 °C/ 2h)..... | 25 |
| Figura 7- Difratoograma do raios-X ilustrando os picos usados no cálculo da cristalinidade pela intensidade..... | 27 |
| Figura 8- Dados da produção de coco em 2017 | 29 |
| Figura 9- Ilustração da estrutura do coco..... | 30 |
| Figura 10- Cascas de coco seco descartadas em área de cultivo..... | 31 |
| Figura 11- Estrutura da biomassa lignocelulósica..... | 31 |
| Figura 12- Desconstrução da estrutura lignocelulósica pelo pré-tratamento | 35 |
| Figura 13- Efeito de diferentes pré-tratamentos na composição de (a) açúcar, (b) Lignina de Klason (KL) e (c) lignina solúvel em ácido (ASL). | 46 |
| Figura 14- Efeito do pré-tratamento de LI nas composições de recuperação de biomassa, açúcar, Lignina de Klason (KL) e lignina solúvel | 47 |
| Figura 15- Gráficos de superfície de resposta do efeito dos pré-tratamentos (a) alcalino, (b) H ₂ O ₂ e (c) ácido na conversão total de açúcares e gráficos | 48 |
| Figura 16- Gráficos de Pareto para os efeitos dos pré-tratamentos (a) H ₂ O ₂ e (b) ácido na conversão total de açúcares, onde as variáveis X1 corresponde a temperatura e X2, o tempo | 49 |
| Figura 17- - Gráficos da superfície de resposta efeito dos pré - tratamentos (a e b) alcalinos (c, e d) H ₂ O ₂ para a Lignina Klason (KL) e o teor de lignina solúvel em ácido (ASL), respectivamente | 50 |
| Figura 18- Gráficos de Pareto para os efeitos dos pré - tratamentos (a e c) alcalinos e (b e d) H ₂ O ₂ para a Lignina Klason (KL) e lignina solúvel, respectivamente | 51 |
| Figura 19- Modelos de regressão dos valores experimentais vs. os valores preditos da superfície de resposta para os efeitos dos pré - tratamentos (a) alcalinos, (b) H ₂ O ₂ (c) ácido descrevendo a eficiência na conversão de açúcar | 53 |
| Figura 20- Modelos de regressão dos valores experimentais vs. os valores preditos da superfície de resposta para os efeitos dos pré - tratamentos (a) alcalinos e (b) H ₂ O ₂ para a Lignina Klason (KL) | 54 |
| Figura 21- Difratoograma de raios-X de amostra de casca de coco bruta e pré-tratadas | 55 |
| Figura 22- Efeito de diferentes pré-tratamentos na conversão de açúcar, teor de lignina total extraído e índice de cristalinidade | 56 |
| Figura 23- Espectros de FTIR das amostras brutas e pré-tratadas | 57 |
| Figura 24- As imagens MEV das amostras (a) não tratadas cascas de coco e pré-tratadas com (b) H ₂ O ₂ , (c) ácido, (d) alcalina, e (e) o líquido iônico | 58 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1- Esquema da matriz do delineamento fatorial realizado para cada pré-tratamento .. | 22 |
| Tabela 2- Fatores e níveis de projeto de DoE* do pré-tratamento de peróxido de hidrogênio – alcalino | 23 |
| Tabela 3- Fatores e níveis de projeto de DoE* do pré-tratamento alcalino | 24 |
| Tabela 4- Fatores e níveis de projeto de DoE* do pré-tratamento ácido | 25 |
| Tabela 5- Principais vantagens e desvantagens de cada pré-tratamento..... | 36 |
| Tabela 7- Composição (%) de Cascas de Coco brutas em base de peso seco..... | 44 |
| Tabela 7- Análise de Variância (ANOVA) a partir de modelos quadráticos..... | 52 |

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

| | |
|--------------------------------|--|
| AIA | Cinza ácida insolúvel (do inglês, Acid Insoluble Ash) |
| AIR | Resíduo ácido insolúvel (do inglês Acid Insoluble Residue) |
| AFEX | Explosão da fibra com amônia (do inglês, Ammonia Fibre Explosion). |
| ANOVA | Análise de Variância |
| ASL | Lignina ácida solúvel (do inglês, Acid soluble lignin) |
| ASE | Extração Acelerada por Solvente (do inglês, Accelerated Solvent Extraction) |
| CF | Carbono Fixo |
| CZ | Teor de Cinzas |
| DCCR | Delineamento Composto Central Rotacional |
| CI | Índice de Crítalinidade |
| DNS | Ácido 3,5-dinitrosalicílico |
| DoE | Delineamento Experimental |
| DRX | Difração de Raios-X |
| H ₂ SO ₄ | Ácido Sulfúrico |
| H ₂ O ₂ | Peróxido de hidrogênio |
| HCl | Ácido Clorídrico |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| I _c | Intensidade Cristalina |
| I _{am} | Intensidade Amorfa |
| FTIR | Infravermelho por Transformada de Fourier (do Inglês, Infrared by Fourier transform) |
| LABQUIM | Laboratório de Química |
| LABCIAMB | Laboratório de Pesquisa em Química Ambiental |
| KL | Lignina de Klason (do inglês, Klason Lignin) |
| LI | Líquido Iônico |
| LT | Lignina Total |
| MEV | Microscopia Eletrônica de Varredura |
| MSR | Metodologia de Superfície de Resposta |
| NaOH | Hidróxido de sódio |
| pH | Potencial Hidrogeniônico |
| PPGCTA | Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos |
| UFT | Universidade Federal do Tocantins |
| TMV | Teor de materia volátil |
| UNICAMP | Universidade Estadual de Campinas |
| UV-Vis | Espectroscopia no Ultravioleta e Visível |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|---------------------|------------------------------|
| β | Beta |
| g | Gramas |
| h | Hora |
| °C | Centígrados |
| % | Porcentagem |
| mg g ⁻¹ | Microgramas por gramas |
| mg dL ⁻¹ | Microgramas por decilitros |
| cm ⁻¹ | Centímetros a menos um |
| μm | Micrometro |
| mL | Mililitros |
| kV | Quilo volts |
| Σ | Somatório total |
| R ² | Coefficiente de determinação |
| Nm | Nanômetro |

SUMÁRIO

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 17 |
| 2.1 | Objetivo geral..... | 17 |
| 2.2 | Objetivos específicos..... | 17 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 18 |
| 3.1 | Materiais..... | 19 |
| 3.1.1 | Equipamentos e Acessórios..... | 19 |
| 3.1.2 | Matéria-prima..... | 19 |
| 3.2 | Métodos..... | 20 |
| 3.2.1 | Análise química aproximada..... | 20 |
| 3.2.2 | Extração..... | 21 |
| 3.2.3 | Delineamento Experimental e Análise Estatística..... | 21 |
| 3.2.4 | Pré-tratamento da biomassa..... | 22 |
| 3.2.4.1 | Pré-tratamento com peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) - alcalino..... | 22 |
| 3.2.4.2 | Pré-tratamento alcalino..... | 23 |
| 3.2.4.3 | Pré - tratamento com ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄)..... | 24 |
| 3.2.4.4 | Pré-tratamento de Líquido Iônico (LI)..... | 25 |
| 3.2.5 | Hidrólise ácida..... | 25 |
| 3.2.6 | Caracterização química | 26 |
| 3.2.6.1 | Quantificação dose teores de açúcares..... | 26 |
| 3.2.6.2 | Quantificação do teor de lignina | 27 |
| 3.2.7 | Análise da cristalinidade da biomassa..... | 27 |
| 3.2.8 | Análise de estrutura química. | 28 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 3.2.9 | Análise da morfologia da superfície (MEV)..... | 28 |
| 4 | REVISÃO DA LITERATURA..... | 29 |
| 4.1 | O cultivo do coqueiro (<i>Cocos nucifera</i> L) e o resíduo do coco verde..... | 29 |
| 4.2 | Composição da biomassa..... | 31 |
| 4.2.1 | Polissacarídeos: celulose e hemicelulose..... | 32 |
| 4.2.2 | Lignina..... | 32 |
| 4.2.3 | Extrativos..... | 33 |
| 4.3 | Pré-tratamento..... | 34 |
| 4.3.1 | Pré-tratamento peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) – alcalino..... | 38 |
| 4.3.2 | Pré-tratamento alcalino..... | 39 |
| 4.3.3 | Pré-tratamento ácido..... | 40 |
| 4.3.7 | Pré-tratamento com Líquido Iônico (LI)..... | 41 |
| 4.4 | Hidrólise ácida da biomassa..... | 42 |
| 4.5 | Planejamento e otimização de experimentos..... | 43 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 44 |
| 5.1 | Efeito dos pré-tratamentos na composição química do resíduo de coco | 45 |
| 5.2 | Otimização dos pré-tratamentos..... | 48 |
| 5.3 | Caracterização de biomassa bruta e pré-tratada..... | 54 |
| 5.3.1 | Efeito da cristalinidade na biomassa..... | 54 |
| 5.3.2 | Efeito na estrutura química e morfológica da biomassa..... | 56 |
| 6 | CONCLUSÃO GERAL | 60 |
| | REFERÊNCIAS..... | 61 |
| | APÊNDICES..... | 70 |

1 INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos produz uma série de resíduos, o que tem causado uma preocupação com o meio ambiente. A larga escala de cultivo e produção do coco, por exemplo, gera quantidades elevadas de resíduos na forma de cascas. Esse resíduo proveniente do seu processamento não é de primeiro momento utilizado, mas com aplicação de tecnologias adequadas pode-se tornar fonte de insumos desejáveis para a geração de uma série de produtos com valor agregado (JIN *et al.*, 2018).

A produção e o consumo de coco verde no Brasil vêm a cada ano crescendo consideravelmente. De acordo com os últimos dados, a produção brasileira de coco atingiu cerca de 1.564,500 toneladas/ano em 2018 (IBGE, 2018). O seu consumo destina-se a dois segmentos: (1) coco seco, destinado à indústria e (2) coco verde, destinado ao mercado da água de coco. No caso do fruto do coco seco, a amêndoa (albúmen sólido) é a que possui interesse comercial e, as cascas, que representam cerca de 80% do peso bruto total, são descartadas na própria área de cultivo (SOARES *et al.*, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2018; RAM e MONDAL, 2018; NOGUEIRA *et al.*, 2019) gerando quantidades expressivas de resíduos (cerca de 8,6 milhões de toneladas) (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

O aproveitamento adequado das cascas de coco tem enorme potencial para uso na indústria alimentícia, devido ao alto teor de açúcares, como a celulose e a hemicelulose, como fonte de insumos alimentícios (xilitol, ácido succínico, ácido lático, ácido acético, entre outros) (SOARES *et al.*, 2016; MUHARJA *et al.*, 2018).

Para tornar disponível esses carboidratos fermentáveis são necessários o fracionamento da biomassa em seus principais componentes, celulose, hemicelulose e lignina (KIM *et al.*, 2016; GARCÍA *et al.*, 2016). Isto pode ser obtido por um pré-tratamento, seguido de um processo de hidrólise para fracionar os componentes (KIM *et al.*, 2014; ALBUQUERQUE *et al.*, 2014). Para se ter uma ideia o pré-tratamento aumenta a eficácia da hidrólise em 90% ou mais, de acordo com o método aplicado (SANCHEZ E CARDONA, 2008).

Os açúcares podem ser extraídos da celulose/hemicelulose após aplicação de métodos de pré-tratamentos biológicos, físicos, químicos e físico-químicos (CABRAL *et al.*, 2016; KOGUT *et al.*, 2017). Para este trabalho vamos tratar dos pré-tratamentos químicos, os quais atuam na deslignificação dos materiais lignocelulósicos proporcionando uma redução do grau de polimerização e na cristalinidade da celulose (QUING *et al.*, 2017), facilitando o acesso aos açúcares.

Entre estes pré-tratamentos estão o uso de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em meio alcalino, ácido diluído (H_2SO_4), líquido iônico (cloreto 1-etil-3-metilimidazólio- [EMIM] Cl) e pré-tratamento hidróxido de sódio (NaOH) (HUANG et al. 2020; RODRÍGUEZ et al., 2016; SHIMIZU et al., 2018; XU et al., 2017).

A escolha correta do melhor pré-tratamento depende da compressão das características das vantagens e desvantagens de cada método, considerando os fatores que atuam no mecanismo de quebra da estrutura lignocelulósica. Dentre esses fatores estão: avaliar a eficiência da hidrólise, o controle das variáveis operacionais (ex.: tempo e temperatura), a menor incidência de reação de degradação, menor geração de poluentes, consumo de água, energia, e a severidade das condições de operação (SEIDEL e GOULART, 2016; QUING et al., 2017).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é a investigação dos processos de aproveitamento do subproduto do coco verde (cascas), por meio de pré-tratamentos químicos na produção de açúcares fermentescíveis.

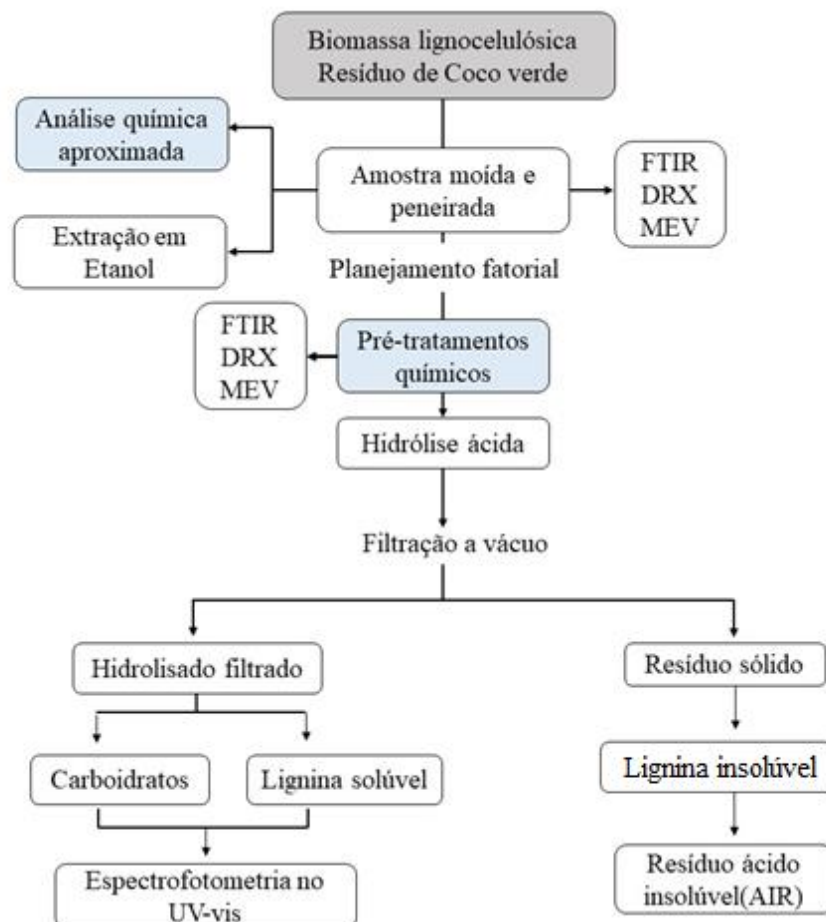
2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a composição da biomassa do resíduo de coco bruta e pré-tratada;
- Utilizar a metodologia experimental de planejamento com auxílio de metodologia de superfície de resposta nos diversos pré-tratamentos, com vistas à maior eficiência dos processos;
- Converter as biomassas pré-tratadas em açúcares fermentescíveis através do processo de hidrólise ácida;
- Avaliar o impacto dos diferentes pré-tratamentos na estrutura interna e externa das biomassas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia no infravermelho (FTIR) e difração de raios-X (XRD);

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados em uma sequência conforme o fluxograma a seguir (Figura 1). Os equipamentos e acessórios utilizados durante o desenvolvimento deste trabalho são parte do Laboratório de Química (LABQUIM), Laboratórios do programa de Ciências Ambientais (LABCIAMB), Laboratório de Pesquisa em Química Ambiental e de Biocombustíveis (LAPEQ), ambos na Universidade Federal do Tocantins (UFT). Algumas análises foram realizadas na Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Para a realização dos experimentos foram utilizada água destilada. Todos os produtos químicos utilizados neste trabalho de pesquisa são de grau analítico e utilizados sem mais nenhuma purificação.

Figura 1 - Representação esquemática dos procedimentos experimentais.



3.1 Materiais

3.1.1 Equipamentos e Acessórios

- Espectrofotômetro HACH / Germany; Mod.: DR5000(<https://www.hach.com>);
- Espectrômetro de Infravermelho CARY 630 FTIR, Agilent Technologies;
- Difratorômetro de Raio-X, Bruker D8 Advance, Karlsruhe, Germany;
- Microscópio Eletrônico de Varredura por Emissão de Campo; Shimadzu, S-3400N, Tóquio, Japão;
- Chapa aquecedora com agitador magnético SOLAB;
- Banho-maria Nova Ética (www.novaetica.com.br);
- Estufa SolidSteel, SSD 110L;
- Mufla 1200 DRP7, SP Labor;
- Autoclave vertical de capacidade de 18L, Phoenix;
- Extrator tipo Soxhlet;
- Moinho analítico tipo Willye, modelo star FT 50, marca Fortenox;
- Bomba a vácuo compressor, LT 65, Limatec acoplado com Trap;
- Papel Filtro nº01 Qualy, Jprolab;
- Cadinhos de fundo poroso (8 µm) -Para filtração, Modelo 7P-Chiarotti
- Cartuchos de celulose.

3.1.2 Matéria-prima

Os resíduos de coco (*Cocos nucifera* L.) utilizados neste trabalho foram obtidos de lixões na cidade de Palmas-TO, em março de 2018. Após a coleta (500 gramas), os resíduos de coco foram lavados com água corrente e secos em temperatura ambiente por 48h e por mais 24h em estufa a 50 °C.

Após a secagem, foi realizada a separação manual das fibras (mesocarpo fibroso) da casca externa (epicarpo). Após a separação foram trituradas separadamente em moinho de facas, peneiradas até o tamanho de partículas (180-850 µm) e então armazenadas em frascos de vidros herméticos, para uso posterior (Figura 2).

Figura 2- Amostra de coco utilizada nos processos



Fonte: Autor (2020).

3.2 Métodos

3.2.1 Análise química aproximada

Os procedimentos utilizados para análise química aproximada ou imediata como também é conhecida, foram realizados segundo as normas da Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM). Todas as análises foram realizadas a fim de manter um desvio padrão inferior a 1%.

O teor de umidade foi determinado (ASTM D3173-87) para 1g da amostra moída e peneirada, aquecida a 105 ± 5 °C em estufa com circulação de ar durante 12 horas. Em seguida, foi colocado em dessecador por 20 min para ser resfriada e o teor de umidade calculado conforme a Equação 1:

$$\text{Umidade(\%)} = \frac{M_i - M_v}{M_i} \times 100 \quad (1)$$

Onde M_i é a massa em gramas da amostra usada;

M_v é a massa da amostra em gramas após o aquecimento.

O teor de matéria volátil (TMV) foi determinado de acordo com a ASTM D 3175-07 (Sociedade Americana para Testes e Materiais, 2007). Foi utilizado em torno de 1g da amostra previamente seca, em mufla a 800 ± 10 °C por 8 minutos. Após o tempo, a amostra foi retirada e colocada em dessecador, durante 60 minutos, onde finalmente foi pesada e seu teor de TMV calculado conforme a Equação 2:

$$\text{TMV (\%)} = \left(\frac{M_i - M_f}{M_i} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde M_i é a massa em gramas da amostra usada;

M_f é a massa da amostra em gramas após a oxidação em mufla.

O teor de cinzas (CZ) foi determinado de acordo com a ASTM D3174-04 (Sociedade Americana para Ensaio e Materiais, 2004), no qual 1g da amostra moída e peneirada, foi submetido a incineração em mufla à uma temperatura de 600 ± 50 °C por aproximadamente 4 h. A diferença entre as amostras iniciais e finais obtendo o teor de cinzas, foi determinado de acordo com a Equação 3:

$$CZ (\%) = \left(\frac{M_f \times 100}{M_i} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde M_i é a massa em gramas da amostra usada;

M_f é a massa da amostra em gramas após o aquecimento.

O teor de carbono fixo (CF) é uma medida indireta, calculado pela Equação 4:

$$CF (\%) = 100 - (CZ + TMV). \quad (4)$$

3.2.2 Extração

Este procedimento foi realizado em um extrator Soxhlet, utilizando aproximadamente 3g de cada amostra (secas) de biomassa e 190 mL de etanol (95%) por 16- 24h em refluxo (NREL, 2011).

Após o final do refluxo, os cartuchos foram retirados e colocados em placas de petri no balcão por 48h para serem secos. Amostras finais e iniciais foram pesadas, subtraídas e, assim, o teor de extrativos foi determinado a partir da Equação 5:

$$\text{Extrativos (\%)} = \left(\frac{\text{massa da extração}}{\text{massa da amostra bruta}} \right) \times 100 \quad (5)$$

3.2.3 Delineamento Experimental e Análise Estatística

Para otimizar as condições de pré-tratamento, o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) foi realizado usando Protimiza (<http://experimental-design.protimiza.com.br/>).

Gráficos de superfície de resposta foram desenvolvidos usando a equação polinomial quadrática ajustada obtida a partir da análise de regressão, mantendo uma das variáveis

independentes em um valor constante correspondente ao ponto central e alterando as outras duas variáveis.

Foram utilizadas duas variáveis e projetadas com onze tentativas em cinco níveis diferentes (Tabela 1). As tabelas 2, 3 e 4 mostram os fatores e seus níveis no DCCR para condições experimentais. As variáveis de entrada para o pré-tratamento foram: temperatura (X1) e tempo (X2) da biomassa na solução pré-tratada, e o rendimento de açúcares fermentáveis (Y1) e a remoção de lignina (Y2), foram os parâmetros avaliados.

Tabela 1- Esquema da matriz do delineamento fatorial realizado para cada pré-tratamento.

| Experimentos (%) | Temperatura (°C) | Tempo (h) |
|------------------|------------------|-----------|
| | (X1) | (X2) |
| 1 | -1 | -1 |
| 2 | 1 | -1 |
| 3 | -1 | 1 |
| 4 | 1 | 1 |
| 5 | -1,41 | -1 |
| 6 | 1,41 | 0 |
| 7 | 0 | -1,41 |
| 8 | 0 | 1,41 |
| 9 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 0 |
| 11 | 0 | 0 |

3.2.4 Pré-tratamento da biomassa

O rendimento da biomassa pré-tratada (RY%) foi definido de acordo com Weerachanchai e Lee (2014), a partir da Equação 7:

$$\text{Rendimento da biomassa pré-tratada (RY\%)} = \left(\frac{\text{massa de biomassa pré-tratada}}{\text{massa da biomassa bruta}} \right) \times 100 \quad (7)$$

3.2.4.1 Pré-tratamento com peróxido de hidrogênio (H₂O₂) - alcalino

No planejamento fatorial experimental do H₂O₂ alcalino, preparou-se uma solução de água oxigenada 3% (m/v) e ajustou-se o pH a 11,5 com solução de NaOH 1M. Os pré-

tratamentos foram preparados em um Erlenmeyer para a razão sólida de 1:20 sólido/líquido (m/v) com uma concentração de 3% H₂O₂ sob agitação. As condições de tempo e temperatura foram otimizadas de acordo com a Tabela 3. Após o arrefecimento à temperatura ambiente, as frações solúvel e sólida (insolúvel) foram separadas por filtração utilizando cadinhos filtrantes (porosidade de 10 a 15 µm) em bomba de vácuo. A fração sólida foi lavada com água destilada até atingir pH 7 (MONTE *et al.*, 2010), seca em estufa a 45 °C por 12h e então armazenada em sacos plásticos até análise posterior (Figura 3).

Figura 3- Biomassa de coco após pré-tratamento peróxido de hidrogênio (Experimento 1).



Fonte: Autor (2020)

Tabela 2- Fatores e níveis do projeto de DoE* para pré-tratamento de peróxido de hidrogênio-alcálico.

| Variáveis | Código | Níveis | | | | |
|------------------|--------|--------|----|----|----|-------|
| | | -1,41 | -1 | 0 | +1 | +1,41 |
| Temperatura (°C) | X1 | 33,79 | 40 | 55 | 70 | 76,21 |
| Tempo (horas) | X2 | 2,59 | 3 | 4 | 5 | 5,41 |

*DoE: Delineamento Experimental

3.2.4.2 Pré-tratamento alcalino

Para o pré-tratamento alcalino, 5g de amostras secas e moídas foram transferidas para frascos de vidro de 100 mL e misturadas com soluções de NaOH a 4% (m/m) para o volume total de 50 mL. Após a homogeneização, as amostras foram mantidas sob agitação em chapas de aquecimento de acordo com o tempo e a temperatura do planejamento experimental (Tabela 4). Após o arrefecimento à temperatura ambiente, as frações solúvel e sólida (insolúvel) foram separadas por filtração utilizando cadinhos filtrantes (porosidade de 10 a 15 µm) em bomba de vácuo. A fração sólida foi lavada com água destilada para atingir pH 7 (BRIENZO *et al.*, 2016), seca em estufa a 45 °C e então armazenada em sacos plásticos até análise posterior (Figura 4).

Figura 4 - Biomassa de coco após o pré-tratamento alcalino (Experimento 6).



Fonte: Autor (2020).

Tabela 3.- Fatores e níveis de projeto de DoE* do pré-tratamento alcalino.

| Variáveis | Código | Níveis | | | | |
|-----------------|----------------------|--------|----|----|----|-------|
| | | -1,41 | -1 | 0 | +1 | +1,41 |
| Temperatura(°C) | X₁ | 33,79 | 40 | 55 | 70 | 76,21 |
| Tempo (horas) | X₂ | 0,59 | 1 | 2 | 3 | 3,41 |

*DoE: Delineamento Experimental

3.2.4.3 Pré - tratamento com ácido sulfúrico (H₂SO₄)

As amostras foram autoclavadas (tempo e temperatura de acordo com o delineamento experimental mostrado na Tabela 5) utilizando uma solução de H₂SO₄ a 2,5%, em uma proporção de 1:20 sólido/líquido (m/v). Após a autoclavagem, a solução foi resfriada à temperatura ambiente e filtrada a vácuo. A fração sólida foi lavada com água deionizada para atingir pH 5 (BRIENZO et al., 2014), seca a 45 °C em estufa e foram armazenada em sacos plásticos até posterior análise (Figura 5).

Figura 5 - Biomassa de coco após o pré-tratamento ácido (Experimento 8).



Fonte: Autor (2020).

Tabela 4- Fatores e níveis de projeto de DoE*do pré-tratamento ácido.

| Variáveis | Código | Níveis | | | | |
|-----------------|----------------------|--------|-----|-----|-----|--------|
| | | -1,41 | -1 | 0 | +1 | +1,41 |
| Temperatura(°C) | X₁ | 105,86 | 110 | 120 | 130 | 134,14 |
| Tempo (horas) | X₂ | 0,29 | 0,5 | 1 | 1,5 | 1,71 |

*DoE: Delineamento Experimental.

3.2.4.4 Pré-tratamento de Líquido Iônico (LI)

Para o pré-tratamento com LI, utilizou-se o cloreto 1-etil-3-metilimidazólio ([EMIM] Cl) adicionado à biomassa de coco em um Erlenmeyer de 25 mL, com uma proporção de 1:20 sólido/líquido (m/v). As misturas foram aquecidas com as seguintes condições: tempo (2 h, 4 h e 6 h) e temperaturas (100 °C, 120 °C e 140 °C), respectivamente, sem planejamento de experimentos (WEERACHANCHAI e LEE, 2014). Após o pré-tratamento, foram adicionados 10 mL de água destilada lentamente à mistura e, em seguida, a solução foi homogeneizada em um vortéx. Após filtração a vácuo, a fração sólida foi lavada novamente em água destilada (500 mL) para remover o excesso de LI. O material pré-tratado foi seco na estufa por 12 h a 70 °C. As biomassas pré-tratadas foram armazenadas em sacos plásticos até posterior análises (Figura 6).

Figura 6.- Biomassa de coco após o pré-tratamento com LI (100 °C/ 2h).



Fonte: Autor (2020).

3.2.5 Hidrólise ácida

As amostras brutas e pré-tratadas (300 mg) foram submetidas a uma hidrólise ácida de dois estágios, como descrito por Sluiter *et al.* (2008). No primeiro estágio, a amostra e o ácido sulfúrico a 72% (3 mL) foram submetidos em banho maria a 30 °C por 1 h e agitado a cada 10

min. Na segunda etapa, a amostra foi autoclavada por 1 h a 120 °C, e depois 84 mL de água foram adicionados. Posteriormente foram filtradas e armazenadas, separando a parte líquida para análises de açúcares e lignina solúvel e o sólido também reservado para obtenção do teor de lignina insolúvel em ácido, também conhecido como lignina de Klason.

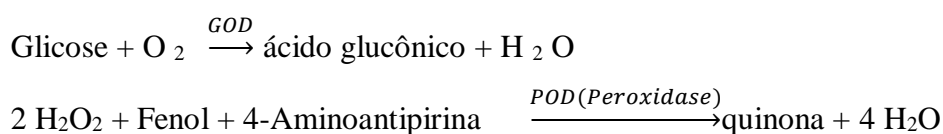
3.2.6 Caracterização química

3.2.6.1 Quantificação dose teores de açúcares

A mistura da solução de hidrólise no ensaio com ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (150 µl em 2850 µl) foi fervida durante 5 minutos e depois foi arrefecida num banho de gelo. A absorvância de misturas desenvolvidas em cores derivadas da redução do DNS através da redução de açúcares a 540 nm foi medida por um espectrofotômetro UV-vis para quantificar os teores de açúcares redutores totais. As concentrações de açúcares redutores totais foram calculados a partir da curva padrão de D-glicose. A conversão de açúcar (%) foi determinada de acordo com a Equação 8 (WEERACHANCHAI e LEE, 2014).

$$\text{Conversão de açúcar (\%)} = \frac{\text{massa de açúcares redutores totais}}{\text{massa da biomassa regenerada}} \times 100 \quad (8)$$

Um kit de teste (LABTEST, MG, Brasil) foi utilizado para medir a atividade enzimática pela quantidade de glicose-oxidase (GOD / POD). Do qual a reação ocorre da seguinte forma:



O procedimento analítico consistiu em adicionar 1,0 mL da amostra de casca de coco hidrolisada à solução do reagente de glicose (1 mL). O mesmo procedimento foi realizado com uma solução padrão de glicose. As alíquotas formadas foram levadas para um banho maria (37 ° C) por 15 minutos (VISVANATHAN et al., 2016). Posteriormente, a absorvância das amostras foi medida a 500 nm em espectrofotômetro.

A concentração de glicose foi determinada em mg dL⁻¹ pela razão entre a absorvância da amostra e a absorvância do padrão.

3.2.6.2 Quantificação do teor de lignina

A lignina Klason (KL) e de lignina solúvel em ácido (ASL) na biomassa bruta e pré-tratada foram extraídos e quantificados seguindo o procedimento desenvolvido por Sluiter et al. (2008). Para KL, os sólidos retidos em cadinhos filtrantes foram levados a estufa a 105 °C para análise de resíduos insolúveis em ácido (AIR) e em seguida submetidas à temperatura de 575 °C para efeitos de medição de cinzas insolúveis em ácido (AIA). Por diferença de AIR e AIA, foi obtido o teor de lignina insolúvel, também conhecido como Lignina Klason.

Para determinar o ASL foi utilizado o hidrolisado de coco em comprimento de onda de 294 nm, a solução de H₂SO₄ a 4% como branco. A lignina total (LT) é a soma de KL + ASL.

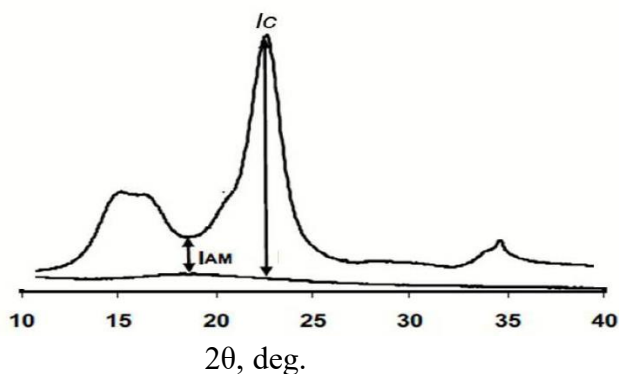
3.2.7 Análise da cristalinidade da biomassa

As medidas de difração de raios-X (DRX) foram realizadas usando um difratômetro de raio X utilizando radiação Cu K α e operado a uma voltagem de 40 kV e uma corrente de 30 mA. A varredura foi feita na faixa de 5° <2 θ > 50° a uma velocidade com detecção de 0,5° min⁻¹. O índice de cristalinidade (CI) da celulose foi determinado de acordo com o método Segal et al. (1959), com a seguinte Equação 9 e a Figura 7:

$$CI (\%) = \frac{I_c - I_{am}}{I_c} \times 100\% \quad (9)$$

Onde I_c é a intensidade da porção cristalina (celulose cristalina) determinada em $2\theta = 22,2^\circ$ e I_{am} é o pico para a porção amorfa (ou seja, celulose amorfa, hemicelulose e lignina) em $2\theta = 16,4^\circ$.

Figura 7- Difratoograma do raios-X ilustrando os picos usados no cálculo da cristalinidade pela intensidade



Fonte: RAMBO (2015)

3.2.8 Análise de estrutura química

A análise espectroscópica de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) das amostras de coco brutas e pré-tratadas foram determinadas em um espectrômetro FTIR com faixa de 4000 a 650 cm^{-1} , com incremento de 4 cm^{-1} e 32 varreduras para cada amostra. Dois espectros foram coletados para cada amostra e o espectro médio foi usado para análise de dados.

3.2.9 Análise da morfologia da superfície (MEV)

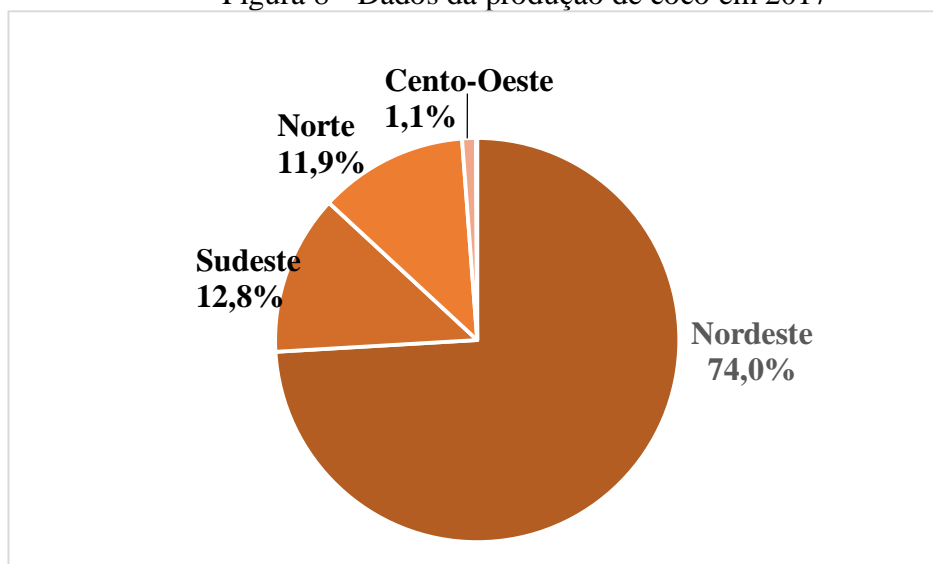
A morfologia e a estrutura física das amostras de coco foram observadas usando imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras foram secas a 60 °C até peso constante e revestidas com filme de Au/Pd. Todas as imagens foram tiradas com uma ampliação de 300 vezes e observadas a uma voltagem de 10 kV.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 O cultivo do coqueiro (*Cocos nucifera* L) e o resíduo do coco verde

O cultivo de coqueiros no Brasil está localizado na maior parte ao longo da costa do Nordeste, devido condições ótimas para o crescimento caracterizadas pelo solo arenoso, e vem se expandindo para áreas irrigadas, como a região semiárida nordestina (REZENDE et al., 2017). Nessa Região concentram-se 82,9% da área colhida de coco do Brasil e 74,0% da produção nacional, seguido do Sudeste (224 mil cocos/ano) e logo depois o Norte (207 mil cocos/ano) (Figura 8). Isso demonstra a importância da cultura do coco (*Cocos nucifera* L.) em muitas regiões brasileiras.

Figura 8- Dados da produção de coco em 2017



Fonte: IBGE (2018)

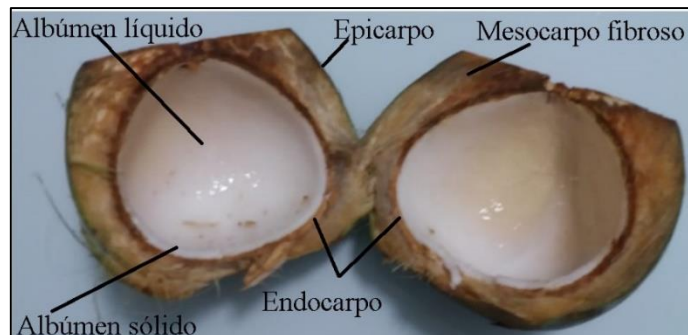
O coqueiro possui dois tipos de variedades, a gigante (*Typica* Nar.), usada principalmente para obter polpa e leite, sua utilização mais empregada, *in natura* para uso culinário e agroindustrial. A variedade anã (*Nana* Griff), a mais cultivada no Brasil, usada para extração de água de coco. O coco verde e o coco seco podem ser obtidos durante todos os meses do ano, a colheita é realizada normalmente em dois períodos de maturação, conforme a finalidade ou mercado a que se destina o fruto (TELLEIRA et al., 2018, BRAINER, 2019).

O fruto normalmente ultrapassa 1 kg de peso fresco. De acordo com Cabral et al. (2015), o fruto pode ser estruturado da seguinte forma (Figura 9):

- Pericarpo: é a parte do fruto que envolve a semente, constituída pelo epicarpo, mesocarpo e epicarpo, conhecido vulgarmente de casca do coco.
- Epicarpo: camada externa do pericarpo;
- Mesocarpo fibroso (parte mais desenvolvida do coco);
- Endocarpo (casca dura em torno da semente): é a camada mais interna do pericarpo.
- Semente ou amêndoa: toda a estrutura que serve para reproduzir o fruto.
- Albúmen (endosperma): é um tecido contendo substâncias nutritivas na semente. O albúmen líquido é a água de coco, enquanto que o albúmen sólido é a polpa;

O EPICARPO, mesocarpo e endocarpo são considerados parte não comestíveis e representam mais da metade do peso do fruto, com grandes quantidades de resíduos de coco sendo produzidos (CABRAL et al, 2017; DING et al., 2018).

Figura 9.- Ilustração da estrutura do coco



Fonte: Autor (2020)

A grande parte da destinação deste resíduo no Brasil tem por finalidade os aterros sanitários, com cerca de 8,6 milhões de toneladas de casca/ano levando assim a um grande problema ambiental quanto à disposição final dos resíduos gerados neste processo OLIVEIRA et al.,2018) (Figura 10).

O resíduo gerado pode se tornar matéria-prima na fabricação de diversos produtos industriais Pesquisadores de diversos países estudam a possibilidade de usar a fibra da casca do coco verde como matéria-prima para a obtenção de bioprodutos, através da deslignificação das fibras e obtenção de açúcares fermentáveis (CABRAL et al., 2017; RAM e MONDAL, 2018; NOGUEIRA et al. 2019).

Figura 10- Cascas de coco seco descartadas em área de cultivo.

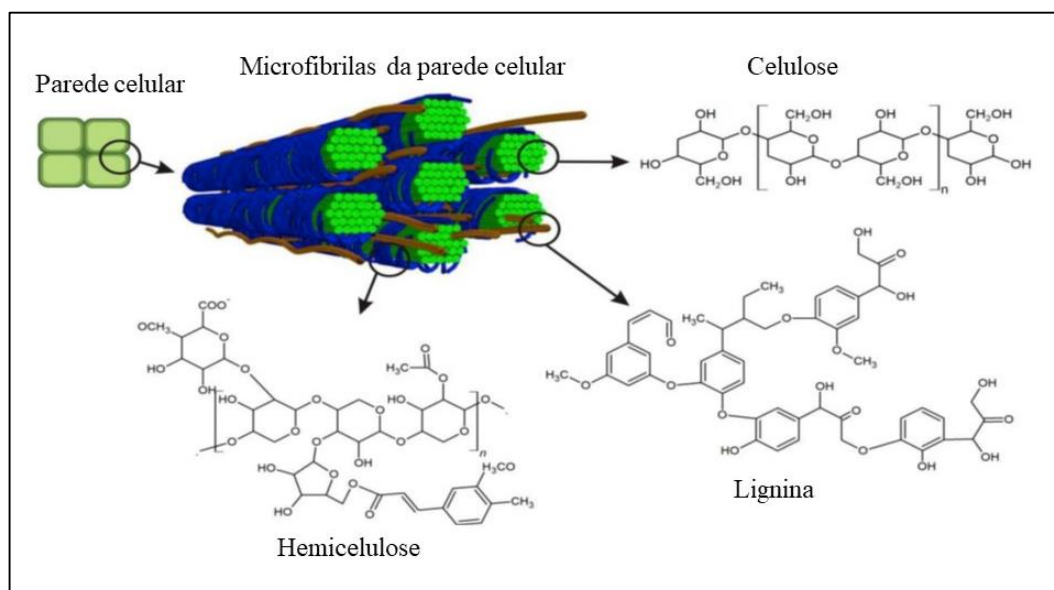


Fonte: MARAFON et al. (2019).

4.2 Composição da biomassa

A biomassa lignocelulósica bruta é um material polimérico heterogêneo, em que sua parede celular consiste principalmente de polissacarídeos (celulose e hemicelulose), lignina e outros componentes, que são organizados em uma estrutura complexa como mostrado na Figura 11. Dessa forma, a composição química do material é fator crucial no processo de bioconversão da biomassa (GONÇALVES et al., 2015; KIM et al., 2016; GARCÍA et al., 2016; CABRAL et al., 2017; RAUND et al., 2019).

Figura 11.- Estrutura da biomassa lignocelulósica



Fonte: RAUND et al. (2019).

4.2.1 Polissacarídeos: celulose e hemicelulose

Os polissacarídeos são os principais constituintes da maioria dos materiais lignocelulósicos, formados por polímeros de açúcares. A celulose é a principal fonte de carbono para a bioconversão. Este não é solúvel em água nem degradável para o ser humano devido à sua estrutura especial composta de ligações β -1,4-glicosídicas de D- glicose (TIAN et al., 2018).

O fato dessa estrutura ser altamente organizada dificulta a remoção dos monossacarídeos fermentáveis das frações polissacarídicas da biomassa. O principal sistema de barreira no processo de bioconversão é a estrutura cristalina da celulose, portanto ela pode ser obtida pelo pré-tratamento para expor o polímero amorfo e alterá-lo para ser mais disponível para os sítios ativos da celulase (DUTRA et al., 2018; TIAN et al., 2018).

A hemicelulose é o segundo polímero mais abundante com a função estrutural na biomassa lignocelulósica (BRIENZO et al., 2017; RAUND et al., 2019). As ligações que envolve as hemiceluloses são mais fracas do que na celulose, pois sua estrutura envolve a estrutura complexa a celulose por ligações de hidrogênio. Dessa forma, para a separação completa das hemicelulose é necessário a aplicação de uma tecnologia que afete diretamente na dissolução da celulose (AGUILAR et al., 2002; AMIN et al., 2017; TIAN et al., 2018).

A biomassa residual de coco verde in natura já é considerada uma fonte de açúcares fermentáveis (25,61% de celulose e 23,48% de hemicelulose) (NOGUEIRA et al., 2019). Em estudo realizado por Cabral et al. (2017), observaram elevada concentração de celulose (24,70%), oferecendo boas condições para sua utilização na produção de açúcares fermentáveis após hidrólise. Em outro estudo, ao caracterizar a biomassa de coco apresentaram aproximadamente 38,0% no total do teor de celulose e hemicelulose na amostra de coco não tratada (ARAÚJO et al., 2017). Yahaya et al. (2020) também obtiveram resultados satisfatórios de celulose (23,0 %) e hemicelulose (35,5%) na caracterização da biomassa de coco bruta.

4.2.2 Lignina

A lignina é um polímero fenólico de estrutura complexa e heterogênea, formado principalmente por três álcoois aromáticos (álcool coniferílico, álcool sinapílico e álcool p-acomalico) (ANWAR et al., 2014; TIAN et al., 2018; SANTOS et al., 2019). Após a celulose, a lignina é o principal componente da parede celular das plantas (DUTRA et al., 2019).

A recalcitrância do material lignocelulósicos está associado a presença da lignina, componente que contribui para este efeito (SANTOS *et al.*, 2019). A lignina pode ser degradada apenas por poucos organismos e certos tratamentos físicos e químicos. O pré-tratamento remove as barreiras físicas e químicas do bagaço recalcitrante e torna a celulose passível de hidrólise enzimática. Portanto, são necessárias tecnologias avançadas de pré-tratamento com o objetivo de remoção máxima de lignina para descobrir a celulose para a sacarificação (NIJU e SWATHIKA, 2019).

De fato, a presença da lignina caracteriza-se em alto grau de durabilidade e resistência ao material e a elevada quantidade dificulta o processo de hidrólise (RAM e MONDAL, 2018).

Estudos relatam altas concentrações de lignina na amostra bruta de coco, Araújo *et al.* (2017) e Cabral *et al.* (2017) mostraram um alto teor de lignina de aproximadamente 40,0%. Este alto teor de lignina também foi determinado por Nogueira *et al.* (2019) apresentando cerca de 32,22%.

4.2.3 Extrativos

Os extrativos são definidos como componentes estranhos aos principais constituintes estruturais existentes na biomassa, que podem ser separados do material insolúvel da parede celular pela sua solubilidade em água ou em solventes orgânicos neutros (benzeno, acetona e etanol, entre outros). Os extrativos consistem em gorduras, gomas, alcaloides, resinas, açúcares simples, composto aromáticos, óleos essenciais e outros constituintes citoplasmáticos e representam cerca de 2-25% da biomassa lignocelulósica (RAMBO, 2013a; JUAN *et al.*, 2010).

A presença de extrativos na biomassa lignocelulósica interferem nas análises, pois podem catalisar a formação de ácidos. Quando é comparada com a biomassa bruta, a biomassa extraída possui maior energia de ativação e após a hidrólise libera os principais produtos mais cedo (celulose, hemicelulose e lignina) (GUO *et al.*, 2010; ROSDIANA *et al.*, 2017; SUTANTO *et al.*, 2017).

As tecnologias para a extração relatadas na literatura são baseadas na extração acelerada por Solvente (ASE) e a extração com sistema de Soxhlet. O instrumento ASE realiza a extração de resinas e outras impurezas sob alta temperatura e pressão em um período de tempo consideravelmente menor. O extrator Soxhlet realiza procedimentos de acordo com a solubilidade do composto por determinado solvente, utilizado principalmente na extração de lipídeos e para outros compostos. Este sistema permanece comumente mais utilizado, devido a

sua acessibilidade (NEUSCHILD *et al.*, 2015).

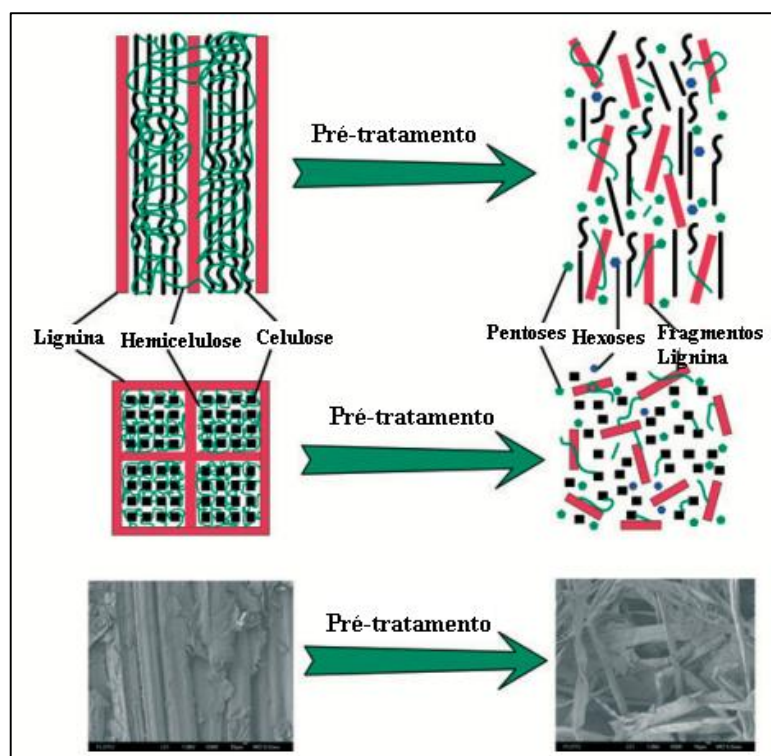
4.3 Pré-tratamento

Devido à complexa estrutura recalcitrante da biomassa lignocelulósica, as etapas de pré-tratamento representam o desafio mais crítico para a utilização da biomassa antes da conversão. Qualquer pré-tratamento tem por objetivo mudar a estrutura, hemicelulose e lignina para deixar a biomassa suscetível à hidrólise (ácida ou enzimática), a fim de alcançar alto rendimento de açúcares fermentáveis (KIM *et al.*, 2016; HASSAN *et al.*, 2018; SHAHABAZUDDIN *et al.*, 2018).

Os pré-tratamentos visam modificações na matriz lignocelulósica para alcançar uma alta conversão da celulose, e a fração solubilizada da biomassa após o pré-tratamento é geralmente removida antes da sacarificação. A intensificação de parâmetros em um processo com carga de sólidos elevados e sem desintoxicação sugere que o pré-tratamento leve pode ser melhor, uma vez que menos açúcares são degradados, resultando em um nível de açúcar globalmente mais alto (SOARES *et al.*, 2016).

As barreiras, lignina e hemicelulose, levam a uma menor conversão de até 20% da celulose original (não reorganizada ou fragmentada por qualquer método de pré-tratamento) para açúcares fermentáveis. Portanto, quebrar as ações de hemicelulose e proteção de lignina antes de qualquer processo é definitivamente necessário (TIAN *et al.*, 2018). Os açúcares podem ser extraídos da celulose e hemicelulose após aplicação de um pré-tratamento adequado para a melhor bioconversão, como podemos observar na Figura 12 que descreve a ação de um pré-tratamento em uma biomassa lignocelulósica.

Figura 12- Desconstrução da estrutura lignocelulósica pelo pré-tratamento.



Fonte: Zhao et al.(2012).

Os processos de pré-tratamentos são agrupados em quatro categorias, biológicos, físicos, químicos e combinados (físico-químicos) (CABRAL et al., 2016; KOGUT et al., 2017). O pré-tratamento físico inclui técnicas mecânicas, térmicas, ultra-som e eletroquímicas. O pré-tratamento químico compreende os ácidos, álcalis, líquidos iônicos (LI) e técnicas oxidativas. Biologicamente, enzimas e organismos de degradação de madeira, como fungos e bactérias são aplicados para modificar a composição química e estrutural da biomassa para facilitar a digestão. Explosão a vapor, extrusão e termoquímica são considerados técnicas combinados (CLARKSON, 2018).

Cada tipo de pré-tratamento é único e influencia tanto o rendimento quanto os produtos gerados durante o processo. Assim, a seleção de uma tecnologia de pré-tratamento apropriada deve ser baseada não somente nas características da matéria-prima, mas também na configuração do processo biomassa-bioproduto. É necessário o desenvolvimento de uma estratégia de pré-tratamento eficiente e amigável ao ambiente e que possa também aumentar a digestibilidade do material (YUAN et al., 2018). Dessa forma, é importante avaliar as vantagens e desvantagens dos processos dos pré-tratamentos de materiais lignocelulósicos (Tabela 5).

Tabela 5- Principais vantagens e desvantagens de cada pré-tratamento.

| Pré-tratamento | Vantagens | Desvantagens |
|------------------------|---|--|
| Físico | | |
| Físico | Reduz a severidade dos processos, o consumo de água e a formação de co-produto quando combinado com tratamentos termoquímicos. | Aumenta o consumo de energia |
| Químico | | |
| Alcalino | Reduz a absorção de celulose devido à remoção eficiente de lignina e tem baixos custos. Este tratamento combinado com ácido gera celulose quase pura com menor formação de subprodutos. | Formação de sais que são encalhados para serem incorporados na estrutura. Requer etapas de neutralização e recuperação química e tempos de permanência mais altos. |
| Ácido | Proporciona bons resultados quando combinado com tratamento alcalino. Hidrólise da hemicelulose e tem custos mais baixos. | Produtos químicos perigosos, tóxicos e corrosivos. Requer etapas de neutralização, desintoxicação e recuperação química e materiais anti-corrosivos. Possui alta incidência de degradação do açúcar em coprodutos que reduz o rendimento do processo e inibe a ação de microrganismos fermentadores. |
| Líquido Iônico | Fornece propriedades específicas para degradar estruturas de oxigênio. O processo não requer adição de reagentes químicos, é mais fácil de operar e requer menos energia. | O solvente é volátil, caro e sua recuperação é realizada por uma cromatografia de troca iônica, que também é um método caro. |
| Organosolv | Formação de uma alta carga de sólidos e uma lignina de alta pureza. A catálise pode ser usada para aumentar o rendimento da reação em condições menos severas. | Os solventes precisam ser separados, recuperados e reutilizados, pois têm alto custo. Precisa de lavagem passo. |
| Físico- químico | | |
| Água Quente Líquida | Não precisa de etapas de lavagem, recuperação química ou desintoxicação. Produtos químicos podem ser adicionados para aumentar o | Longo tempo de permanência. Exige grandes volumes de água e equipamentos (que são caros) e alto consumo de energia para |

| Pré-tratamento | Vantagens | Desvantagens |
|-----------------------|---|---|
| | rendimento dos açúcares produzidos. | aquecimento e evaporação da água. Formação moderada de co-produtos. |
| Explosão de vapor | Não usa produtos químicos e menos água. Baixo impacto ambiental e custo efetivo. A presença de catalisadores ácidos, alcalinos ou supercríticos reduz a severidade do processo. | Promove a degradação dos açúcares. Tem altos custos de energia com aquecimento a vapor e compra de equipamentos. |
| AFEX | Baixa formação de co-produtos. Requer menos enzimas. Não precisa de lavagem e neutralização. | Elevados custos de aquisição, separação, recuperação e reciclagem de amônia. |
| Oxidativo | A adição de oxigênio e álcali ao processo de oxidação úmida reduz a severidade do meio e a formação de inibidores. A ozonólise forma uma quantidade insignificante de inibidores. | Os solventes precisam ser separados, recuperados e reutilizados, pois têm alto custo. Precisa de lavagem passo. |
| Biológico | | |
| Biológico | O pré-tratamento é seletivo, não requer adição de substâncias químicas, usa menos energia e tem baixa severidade. | A hidrólise enzimática tem um longo tempo de incubação, baixa taxa de produção e alta sensibilidade à inibição. Perda de atividade celular, requer altas condições de controle. É um processo ecologicamente correto. |

Fonte: SEIDL e GOULART, 2016.

Nota: AFEX- Explosão da fibra com amônia (do inglês, Ammonia Fibre Explosion).

A composição da biomassa varia e diferentes pré-tratamentos devem ser testados para encontrar o melhor para cada substrato específico (TELLERIA *et al.*, 2018). No geral, os pré-tratamentos oxidativos e alcalinos são comumente usados para remover eficientemente a lignina e separá-la da celulose e hemicelulose (SHIMIZU *et al.*, 2018; NOGUEIRA *et al.*, 2019). O pré-tratamento ácido auxilia na síntese dos carboidratos e aumenta a solubilização da hemicelulose (SEIDL e GOULART, 2016). O pré-tratamento com líquido iônico (LI) atua no inchaço da parede celular da biomassa com a redução da cristalinidade da celulose (UJU *et al.*, 2016).

A próxima seção discute quatro métodos de pré-tratamentos: alcalino, ácido, líquido iônico e oxidativo.

4.3.1 Pré-tratamento peróxido de hidrogênio (H_2O_2) – alcalino

O peróxido de hidrogênio é um agente oxidante e extremamente poderoso, adequado para o pré-tratamento em biomassa lignocelulósica. Este pré-tratamento possui características favoráveis por não ser inflamável, é miscível em água e capaz de ser misturado em todas as proporções. O uso de H_2O_2 para o pré-tratamento da biomassa lignocelulósica é baseado nas reações químicas que este agente oxidante sofre no meio líquido alcalino (DUTRA et al., 2018; VERARDI et al., 2018).

O peróxido de hidrogênio alcalino é um reagente relativamente “verde” com baixo impacto ambiental, pois pode ser facilmente decomposto para produzir água e oxigênio como produtos finais, eficaz para uma ampla gama de concentrações de biomassa lignocelulósica, e pode fornecer um alto grau de eficiência de hidrólise (ácida ou enzimática) (DUTRA et al., 2018, HO et al., 2019). A eficácia do pré-tratamento com H_2O_2 alcalino está em grande parte dependente do pH. Li et al (2016) sugeriram que a melhor condição para a reação do pré-tratamento é em pH 11,5. Este pré-tratamento não deixa resíduos na biomassa, pois se degrada em oxigênio e água, a formação de produtos secundários é praticamente inexistente e os custos de H_2O_2 são mais baixos (DUTRA et al., 2018).

De acordo com Rambo et al (2013b), quando o interesse é a fração hemicelulósica (xilose) o melhor pré-tratamento utilizado foi o 1% v/v peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O estudo de Yuan et al. (2018) obteve aumento do teor de celulose, após o aumento da severidade pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino em palha de trigo, isso está relacionado com a remoção de lignina e hemicelulose.

Os estudos que utilizaram H_2O_2 em condições alcalinas mostraram uma grande diferença na concentração de açúcares (TELLEIRA et al., 2018). Verardi et al. (2018) estudaram diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio (0,2% e 1%) para pré-tratamento de bagaço de cana por explosão a vapor. A biomassa bruta (41,4%) após aplicação do pré-tratamento teve um aumento médio de rendimento de 12% para a glicose.

Outro estudo realizado em bagaço de cana-de-açúcar foi a aplicação das condições ótimas (1h, 60 °C) de pré-tratamento com 6,25% de H_2O_2 alcalino alcançando um rendimento global de 77,6% de glicose (ZANG et al., 2019).

Para aumentar a eficiência da hidrólise do bambu através de um pré-tratamento com peróxido alcalino, estudos obtiveram resultados satisfatórios. Huang *et al.* (2020) utilizaram uma solução de peróxido de hidrogênio a 20% com a introdução de etanol no sistema, obtendo uma taxa de remoção de lignina de 74,9%, além disso foi obtido uma quantidade elevada de carboidratos: 83,3% (glucana) e 67,6% (hemicelulose). Ali *et al.* (2020) utilizaram solução de 3,5% de peróxido de hidrogênio, e relataram um aumento de 36,87% de celulose, 50,66% de hemicelulose e 37,94% de lignina.

4.3.2 Pré-tratamento alcalino

O pré-tratamento alcalino é muito eficiente na solubilização da lignina, parte da hemicelulose e na redução da cristalinidade da celulose. É o método mais tradicional de pré-tratamento de biomassa usado no processamento de celulose e papel. O processo de polpação é a etapa na qual os componentes do material lignocelulósica são separados um do outro. O foco está na recuperação de celulose, com lignina e hemiceluloses consideradas como subprodutos (WOICIECHOWSKI *et al.*, 2020).

Entre os pré-tratamentos relatados na literatura, o pré-tratamento alcalino utiliza temperaturas e pressões mais baixas, causa menos degradação do açúcar e remove substâncias amorfas (por exemplo, lignina e hemicelulose) (CABRAL *et al.*, 2017; MONTE *et al.*, 2010). Os produtos químicos para este pré-tratamento são considerados não poluentes e não corrosivos, tais como a amônia (aquosa, líquida e gasosa), hidróxido de sódio, carbonato de sódio e hidróxido de cálcio (MONTE *et al.*, 2010; BAZARGAN *et al.*, 2020). O pré-tratamento alcalino é realizado sob condições mais suaves do que as necessárias para o pré-tratamento ácido (KIM *et al.*, 2016).

Os reagentes alcalinos interagem principalmente com a lignina; portanto, eles são mais eficientes para a sua remoção (KIM *et al.*, 2016). O pré-tratamento alcalino apesar da expressiva perda em celulose, apresenta em seu estudo uma significativa solubilização de lignina (80%) (CABRAL *et al.*, 2017). Quando se trata do pré-tratamento com a melhor abordagem para obter açúcares da casca de coco, o alcalino mostra eficiência na remoção da lignina da biomassa (TELLEIRA *et al.*, 2018).

Nogueira *et al.* (2019) confirmam que ao aplicar o pré-tratamento alcalino em casca de coco sob condições pressurizadas e temperatura amenas, obtiveram a maior mudança estrutural na biomassa, com redução do teor de lignina de 32,2% para 20,33% após o pré-

tratamento. Cabral *et al.* (2017) ao aplicarem apenas 1% (p/v) de NaOH obtiveram a proporção de lignina reduzido de 40,1% para 29,9%, com isso aumentou a fração da celulose de 24,7% para 55,17%. Em outro estudo, a mesma concentração do pré-tratamento com solução de NaOH 1% (p/v) resultou no maior nível de açúcares ($51,6 \pm 0,7$ g de açúcar /100 g de biomassa) produzidos durante o pré-tratamento e a sacarificação (SOARES *et al.*, 2016).

Qing *et al.* (2017) utilizaram dois tipos de pré-tratamento aplicados em caca de soja, o melhor resultado foi o alcalino com 37,9% em comparação do ácido diluído com 26,7% de remoção de lignina. Estudo com o pré-tratamento alcalino (NaOH) foi aplicado a cinco diferentes biomassas (herbáceas e lenhosas) com solução de NaOH a 2% (m/v) a 80 °C por 2 h, relatando um aumento de até 30% na conversão de glicose (WANG *et al.*, 2020).

4.3.3 Pré-tratamento ácido

O ácido sulfúrico diluído é eficaz na remoção do conteúdo de hemicelulose e a libertação de xilose pode ser recuperada com uma degradação mínima. Também é importante notar que a celulose remanescente possui maior digestibilidade enzimática devido à remoção da hemicelulose (BRIENZO *et al.*, 2014; SHIMIZU *et al.*, 2018). Dessa forma o pré-tratamento ácido leva à solubilização do açúcar, aumentando a proporção de componentes cristalinos (celulose) (BRIENZO *et al.*, 2014).

O pré-tratamento com ácido diluído tem sido considerado uma tecnologia promissora, podendo resultar na recuperação de açúcares hemicelulósicos no licor de pré-tratamento e na melhoria da celulose digestível no resíduo sólido (KIM *et al.*, 2014). O pré-tratamento com ácido aumenta a digestibilidade de todas as frações da biomassa, do qual pode ser atribuída à diminuição dos comprimentos da cadeia de celulose e à maior disponibilidade de extremidades reductoras de açúcar (BRIENZO *et al.*, 2014; YAO *et al.*, 2018).

Quig *et al.* (2017) realizaram a comparação de pré-tratamentos com ácido sulfúrico diluído e alcalino em subprodutos de soja (casca e palha). O pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído foi mais eficaz do que o pré-tratamento de alcalino para a produção de açúcares fermentáveis, liberando 86,9% contra 75,6%.

Com o objetivo de obter maior concentração da fração xilose a partir da solubilização da hemicelulose, estudos aplicaram o tratamento ácido para esta finalidade. Brienzo *et al.* (2014) ao aplicarem o pré-tratamento em frações do bagaço de cana-de-açúcar, para todas as amostras pré-tratadas, solubilizou-se principalmente xilose. Jang *et al.* (2018) realizaram o pré-

tratamento em *Quercus mongólica* obtendo 83,0% da taxa de solubilização de xilose. O método proposto por Yu et al. (2018) recuperou 82,4% de xilose para resíduos de mandioca.

O uso de ácido diluído como pré-tratamento foi investigado para avaliar a eficiência da produção de bioetanol a partir de agulhas de pinus de *Pinus roxburghii*. O rendimento máximo de açúcar obtido foi de 96 mg/g de biomassa, usando 1% de HCl e uma carga de biomassa de 5% (p/v) (SLATHIA et al., 2020).

4.3.4 Pré-tratamento com Líquido Iônico (LI)

Os Líquidos Iônicos (LI) são atualmente vistos como uma fonte atraente de solventes verdes para os processos de pré-tratamento de biomassa. Os materiais lignocelulósicos podem ser pré-tratadas com o uso de LI pois não são tóxicos ao meio ambiente. Possuem papel central na conversão limpa da biomassa, permitindo uma série de processos sustentáveis para futuras tecnologias de bioconversão (WEERACHANCHAI et al., 2014; KOGUT et al., 2017; XU et al., 2017).

A eficácia dos LI no pré-tratamento inclui principalmente a dissolução de celulose e extração de lignina, levando a uma maior produção de produtos químicos renováveis. Além disso, o baixo ponto de fusão e a viscosidade desses líquidos iônicos podem fornecer um baixo custo de energia de operação, porque requerem menos aquecimento para o pré-tratamento da biomassa (WEERACHANCHAI et al., 2014; ASIM et al., 2019).

A sua ação ocorre na separação da lignina e celulose, facilitando assim a quebra da celulose em açúcares simples (ZHANG et al., 2017; ASIM et al., 2019). Portanto, o pré-tratamento com certos líquidos iônicos provou ser um método de pré-tratamento bem-sucedido e altamente eficaz na redução da recalcitrância da biomassa (PAPA et al., 2017).

Os resultados de vários estudos recentes mostraram que os líquidos iônicos podem ser aplicados ao tratamento de matérias-primas de biomassa lignocelulósica. Kogut et al. (2017) obtiveram um aumento de três vezes na produção de açúcares redutores em palha de centeio, após o pré-tratamento com líquido iônico acetato de 1-etil-3 metilimidazólio (EMIM OAc), nas condições: tempo - 2 h, temperatura - 120 °C, com a concentração de 10 mL/10g de palha de centeio. Cheng et al. (2017) com a utilização do líquido iônico N-óxido de N-metilmorfolina (NMMO) em resíduos de mandioca, obtiveram um rendimento 72,8% para 85% após o pré-tratamento.

4.4 Hidrólise ácida da biomassa

Ácidos tais como sulfúrico, clorídrico e acético são comumente empregados como catalisadores nestes processos, hidrolisando preferencialmente a fração hemicelulósica, que é mais susceptível ao tratamento ácido, sendo que as frações de celulose e lignina permanecem inalteradas (AGUILAR *et al.*, 2002). O que ocorre é que o catalisador tem sua difusão facilitada dentro da cadeia polimérica da hemicelulose, por esta apresentar uma estrutura aberta aliada à sua estrutura heterogênea e baixo grau de polimerização, proporcionando um melhor rendimento em condições mais amenas e fazendo com que este constituinte da biomassa seja bastante atrativo para uso em processos fermentativos (JEFFRIES *et al.*, 1983; MAGGE; KOSARIC, 1985).

Já em condições mais drásticas, há favorecimento da hidrólise da celulose, pois esta necessita de temperaturas elevadas para romper suas ligações, uma vez que apresenta um alto grau de polimerização (AMICK, 1982) e regiões cristalinas resistentes à hidrólise.

Durante a hidrólise ácida, a concentração de ácido é o parâmetro mais importante que afeta a produção de monossacarídeos, enquanto que a temperatura é o fator de maior impacto na formação de produtos oriundos da degradação dos açúcares, tais como o ácido levulínico, ácido fórmico, furfural, entre outros (RAFIQUL e SAKINAH, 2012). Por exemplo, a hidrólise com ácidos diluídos proporciona um rendimento máximo de glicose de 50%. Já a hidrólise com ácidos concentrados rompe as ligações de hidrogênio entre as cadeias de celulose convertendo-as para um estado completamente amorfo. Nesse momento como a celulose é extremamente susceptível a hidrólise, pode-se diluir com água a temperaturas amenas fornecendo assim uma hidrólise completa (> 90% de glicose) e rápida (YU *et al.*, 2008). Para o segundo parâmetro, altas temperaturas estão associadas a reações secundárias, levando à degradação a outros produtos, de interesse ou não (HAYES *et al.*, 2006; CHOI *et al.*, 2019).

Os ácidos utilizados como catalisadores nos processos de hidrólise liberam prótons que atuam nas ligações glicosídicas entre os monômeros de açúcares nas cadeias poliméricas. O rompimento dessas ligações libera uma série de compostos, principalmente, monossacarídeos como xilose, glicose e arabinose.

Diante da complexidade destes materiais se percebe a importância de se utilizar um pré-tratamento eficaz que possa causar o rompimento destas barreiras facilitando a hidrólise e consequentemente minimizando a degradação evitando assim a perda de açúcares.

4.5 Planejamento e otimização de experimentos

Por meio de um planejamento experimental é possível limitar o número específico de experimentos e investigar os principais parâmetros na eficiência da resposta. A adoção do delineamento determina o tamanho da amostra podendo influenciar na precisão dos ensaios. Dessa forma a otimização do pré-tratamento seria um passo necessário para a sustentabilidade de todo o processo.

O Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) é gerado pela equação polinomial de segunda ordem, e suas respostas (dados experimentais) foram analisados pela análise de variância (ANOVA) e o papel de cada fator e sua interação é explicado pela aplicação quadrática, a partir da Equação 6:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i X_j + \sum \beta_{ij} X_i^2 \quad (6)$$

onde Y é a resposta prevista, Xi e Xj são as variáveis de entrada que afetam a variável de resposta Y; β_0 é o termo de compensação; β_i é o coeficiente do modelo de primeira ordem; β_{ii} é o coeficiente quadrático para o fator i e β_{ij} é o coeficiente do modelo linear para a interação entre os fatores i e j.

A Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) pode ser aplicada quando uma resposta ou um conjunto de respostas de interesse é influenciado por diversas variáveis (GILMOUR et al., 2006). A MSR permitem a análise de efeitos interativos de todas as variáveis independentes do processo e oferecem uma oportunidade para analisar o processo em maior profundidade. Abrange técnicas matemáticas e estatísticas baseadas no ajuste de uma equação polinomial aos dados experimentais, que deve descrever o comportamento de um conjunto de dados com o objetivo de fazer previsões estatísticas (BEZERRA et al., 2008; SAHA et al., 2018).

A implementação da MSR segue por três etapas: (1) coletar dados na entrada com base em um plano experimental estatisticamente projetado, (2) correlacionar os dados experimentais com um modelo de regressão, (3) prever os valores de variáveis de resposta na saída, o que torna-se um aliado no objetivo de otimizar simultaneamente níveis de variáveis para obter o melhor desempenho do sistema (BURATTI et al., 2018).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição físico-química da amostra de coco bruta é mostrada na Tabela 6. A porcentagem de carboidratos totais (32,2%) favoreceu a produção de açúcares fermentáveis, como a glicose (24,9%), que pode servir de material de partida para produzir outros bioprodutos (xilitol, ácido acético, ácido succínico, entre outros) de valor agregado. Em estudos anteriores os resultados foram semelhantes aos relatados no presente trabalho (ARAÚJO *et al.*, 2017; RAM e MONDAL, 2018).

A concentração elevada de lignina total (34%) pode ser facilmente removida com o uso de pré-tratamentos apropriados (ARAÚJO *et al.*, 2017; NOGUEIRA *et al.*, 2019). Os teores baixos de cinzas e umidade (<10%) indicam que a biomassa possui potencial para ser utilizada em biorrefinarias industriais. O baixo teor de cinzas e umidade torna o substrato adequado para utilização fermentativa com mínima geração de resíduos e com menos gastos energéticos (RAM and MONDAL, 2018; QING *et al.*, 2017).

O presente estudo registrou um alto conteúdo extrativo (aproximadamente 30%), semelhante ao relatado em estudo a partir da casca de coco (SOARES *et al.*, 2016; ARAÚJO *et al.*, 2017). O valor de extrativos, apresentou uma quantidade substancial provavelmente devido às características locais específicas do cultivo da matéria-prima., independentemente do pré-tratamento adotado (SOARES *et al.*, 2016; BURATTI *et al.*, 2018).

Tabela 6.- Composição (%) de Cascas de Coco brutas em base de peso seco.

| Componentes | Valores médios |
|---------------------------|-----------------------|
| Açúcares redutores totais | 32,2 ± 0,11 |
| Glicose | 24,9 ± 0,14 |
| KL | 32,8 ± 0,89 |
| ASL | 1,25 ± 0,21 |
| LT | 34,0 ± 0,44 |
| Umidade | 7,66 ± 0,01 |
| Cinza | 3,02 ± 0,33 |
| Extrativos | 30,5 ± 1,50 |

Nota: KL: Lignina de Klason; LT: Lignina Total

5.1 Efeito dos pré-tratamentos na composição química do resíduo de coco

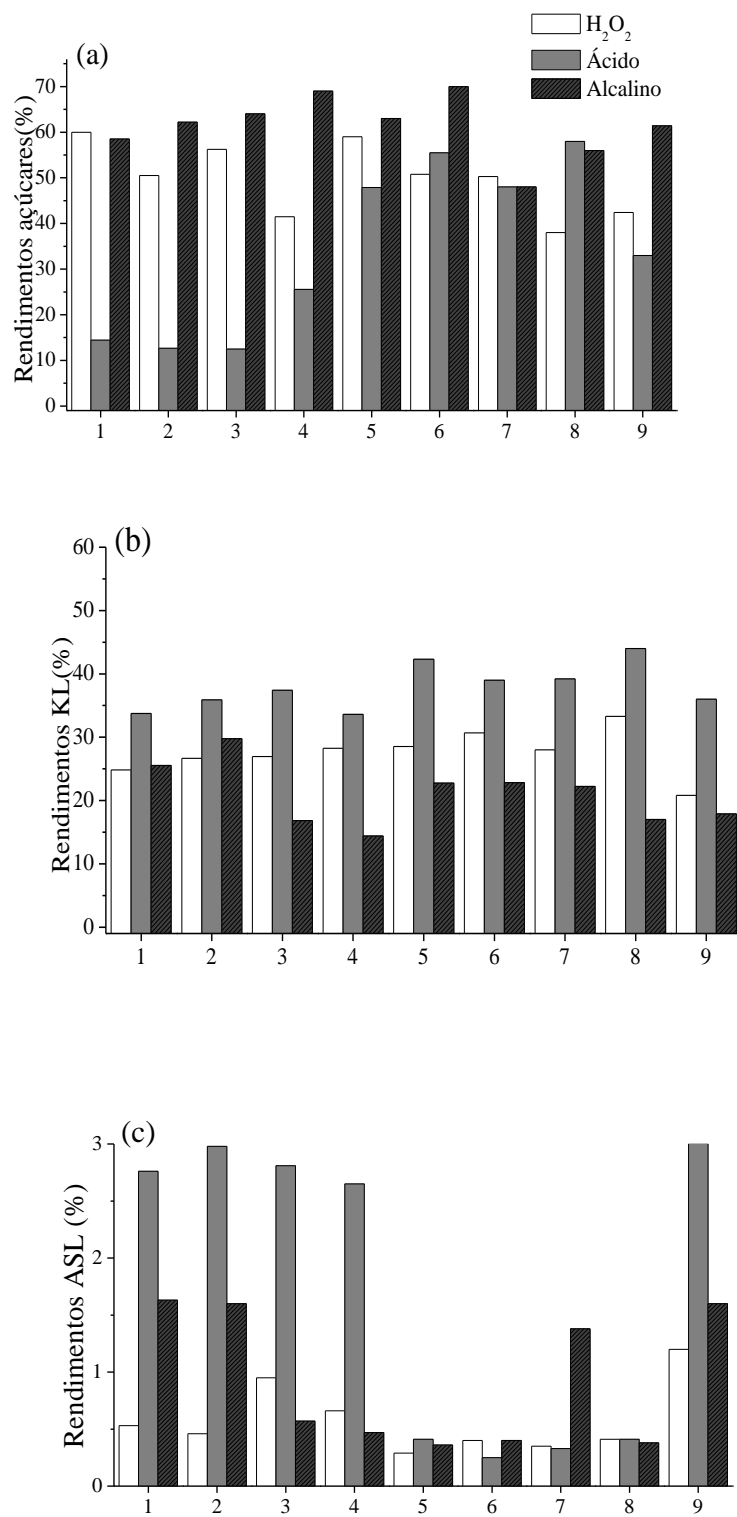
A recuperação da biomassa (rendimento sólido) alcançou valores maiores a 45% registrada após os pré-tratamentos alcalino, oxidativo, e ácido sob todas as condições testadas. A Figura resume os diferentes processos de pré-tratamento aplicado para as cascas de coco e a sua composição (componentes principais), após a aplicação de 11 experimentos, com base na metodologia de superfície de resposta (o experimento número 9 é a média da triplicada entre os experimentos 9,10, e 11).

O teor de açúcar nas amostras sem pré-tratamento atingiu 32%. No entanto, este rendimento aumentou após a aplicação de todos os pré-tratamentos, exceto para o pré-tratamento ácido (ensaios 1, 2, 3, e 4). O pré-tratamento alcalino apresentou a melhor conversão, com maiores rendimentos médios de açúcares (61,3%), seguindo-se os pré-tratamentos com peróxido (50,2%) e ácido (49,8%). Estes resultados podem ser observados na Figura 13a.

Os pré-tratamentos diminuíram a recalcitrância do material lignocelulósica removendo a lignina e a hemicelulose, portanto, expondo a celulose (NOGUEIRA *et al.*, 2019). Resultados obtidos neste trabalho foram semelhantes aos relatados por Shimizu *et al.* (2018), que realizaram um estudo com pseudocaule de banana e relataram aumento no rendimento de glicose e acessibilidade à celulose após os pré-tratamentos ácido e alcalino, enquanto o pré-tratamento com peróxido removeu hemicelulose e lignina para a amostra de banana.

Os pré-tratamentos alcalinos atuaram também removendo a lignina da biomassa (Figura 13b e 13c) com a redução da absorção de celulose, enquanto que o pré-tratamento ácido hidrolisou principalmente hemiceluloses. O resultado também foi relatado por Qing *et al.* (2017), cujo pré-tratamento ácido aplicado sob condições de severidade moderada removeu mais de 90% de hemicelulose.

Figura 13 - Efeito de diferentes pré-tratamentos na composição de (a) açúcar, (b) Lignina de Klason (KL) e (c) lignina solúvel em ácido (ASL).

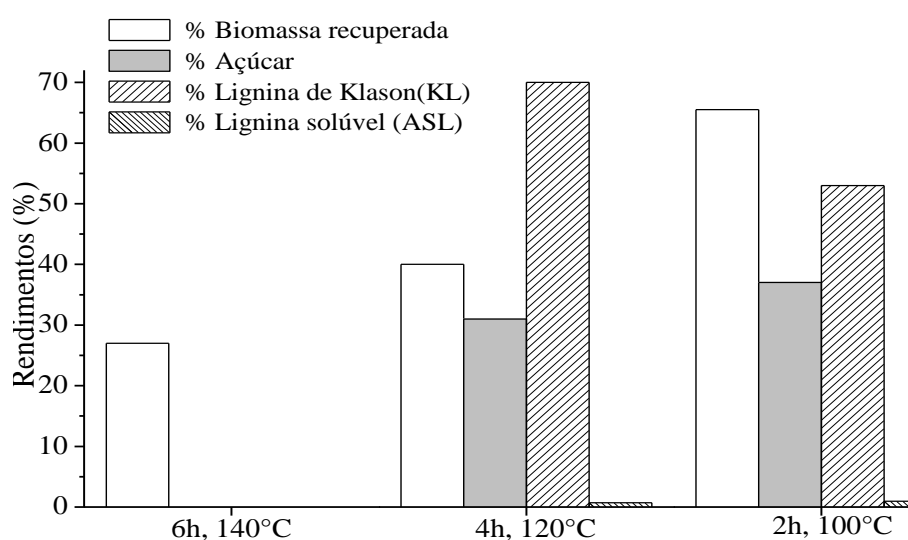


A literatura relata estudos com a eficiência de alguns pré-tratamentos, dentre eles, Patiño *et al.* (2017) combinou dois tipos de pré-tratamento de biomassa de oliveira em duas etapas, ácido e peróxido alcalino para a produção de bioetanol e alcançou 80% de deslignificação e 72% de rendimento de celulose, respectivamente. Já Qing *et al.* (2017) compararam os pré-tratamentos alcalinos e ácidos aplicados a resíduos de soja para produzir açúcares fermentáveis, obtendo com o pré-tratamento ácido o maior rendimento de açúcares totais (acima de 70%).

O pré-tratamento com LI efetuado em períodos de 6, 4 e 2 horas de reação resultou em perda da biomassa de 73%, 60% e 34,5% de extração sólida, respectivamente. Como a recuperação da biomassa sob baixas condições de reação (2h e 4h) foi superior a 40%, apenas estas duas condições foram submetidas a hidrólise ácida para determinar a composição química da biomassa após a aplicação do pré-tratamento com LI (Figura 14). A alta perda de biomassa sob a condição de reação de 6 h a 140 °C não permitiu uma amostra razoável para a hidrólise.

O LI não foi eficaz na extração de lignina, e não houve aumento da área de superfície acessível para a dissolução de carboidratos. Resultados semelhantes foram relatados por Torr *et al.* (2016), não encontraram alterações na cristalinidade da celulose e na remoção de lignina.

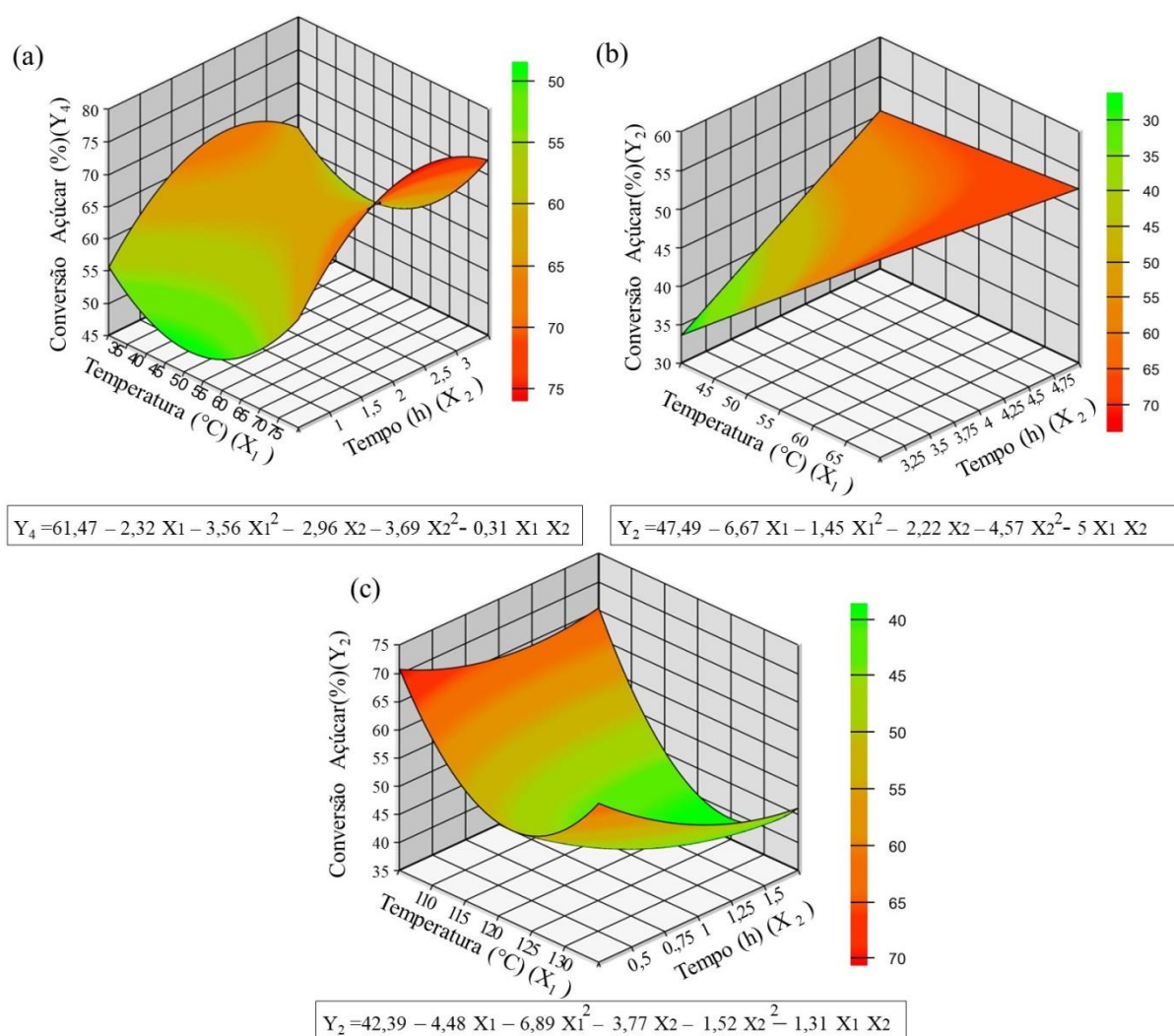
Figura 14 - Efeito do pré-tratamento LI nas composições de recuperação de biomassa, açúcar, Lignina de Klason (KL) e lignina solúvel.



5.2 Otimização dos pré-tratamentos

Resultados experimentais foram visualizados em gráficos de superfície de resposta tridimensional, os quais mostraram os efeitos da interação entre as variáveis “temperatura” e “tempo” no rendimento de açúcar no pré-tratamento aplicado à biomassa lignocelulósica (Figuras 15 e 16).

Figura 15- Gráficos de superfície de resposta do efeito dos pré-tratamentos (a) alcalino, (b) H₂O₂ e (c) ácido na conversão total de açúcares e gráficos.

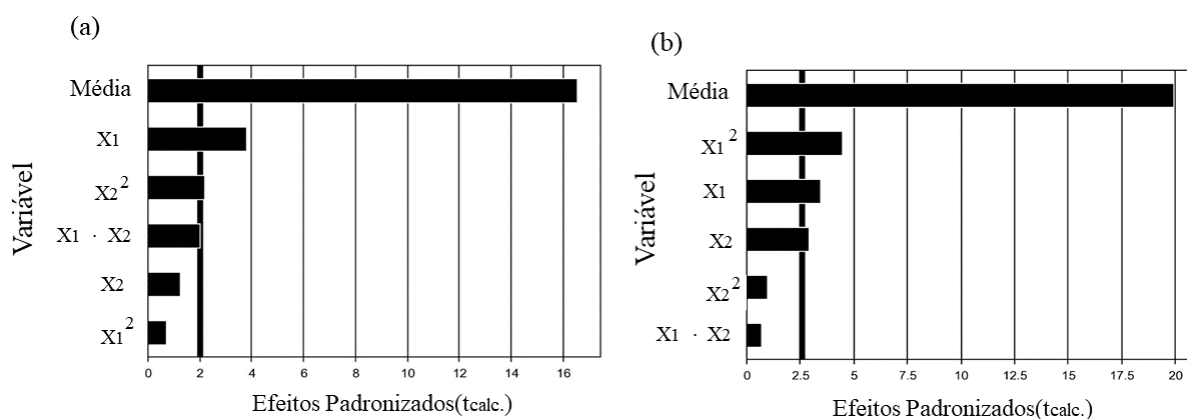


A Figura 15a para o pré-tratamento alcalino mostra que a aplicação de alta temperatura aumentou a solubilidade de carboidratos associada aos tempos de reação intermediários (2h e 3h). Embora, as variáveis para este pré-tratamento não apresentaram efeito da interação. Com base na interação entre temperatura e tempo de reação, a Figura 15b mostra que o rendimento

máximo de açúcar é alcançado após o pré-tratamento de peróxido aplicados a temperaturas elevadas em maiores tempos de reação. Conforme a figura 16a, no diagrama de Pareto, apenas a variável “temperatura” influenciou de forma significativa o rendimento do açúcar.

A configuração da superfície de resposta na Figura 15c é oposta à mostrada nas Figuras 15a e 15b, quando a aplicação de temperaturas mais baixas e menores tempos de reação durante o pré-tratamento ácido aumentaram o teor de açúcar, do qual pode ser observado na Figura 16b, no gráfico de Pareto que tanto a temperatura como o tempo de reação tiveram discreta influência no processo.

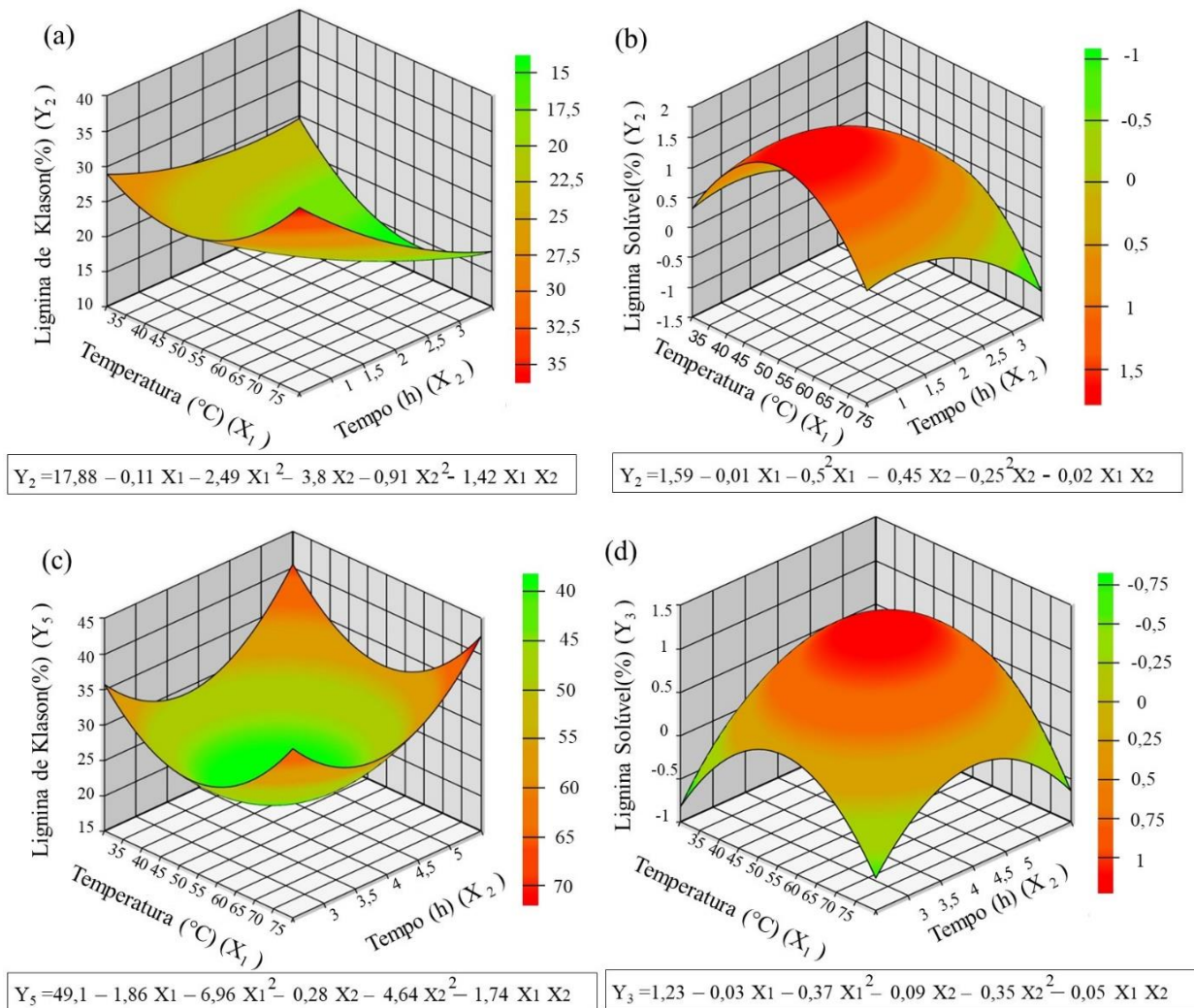
Figura 16- Gráficos de Pareto para os efeitos dos pré-tratamentos (a) H_2O_2 e (b) ácido na conversão total de açúcares, onde as variáveis X_1 corresponde a temperatura e X_2 , o tempo.



A Figura 17 mostra as superfícies de resposta dos pré-tratamentos alcalinos e peróxidos para a Lignina Klason (a e b) e lignina solúvel (c e d). No pré-tratamento alcalino, a resposta de lignina Klason (Figura 17a) aumentou devido um aumento da temperatura ($> 70^\circ C$).

O tempo teve um efeito ligeiramente negativo sobre o ASL nas temperaturas mais altas. Houve interações tempo-temperatura positivas quando o ASL foi submetido a condições intermediárias, ou seja, quando a temperatura foi mantida a $55^\circ C$ e o tempo de reação adotado foi de 4 h (Figura 17 c e d).

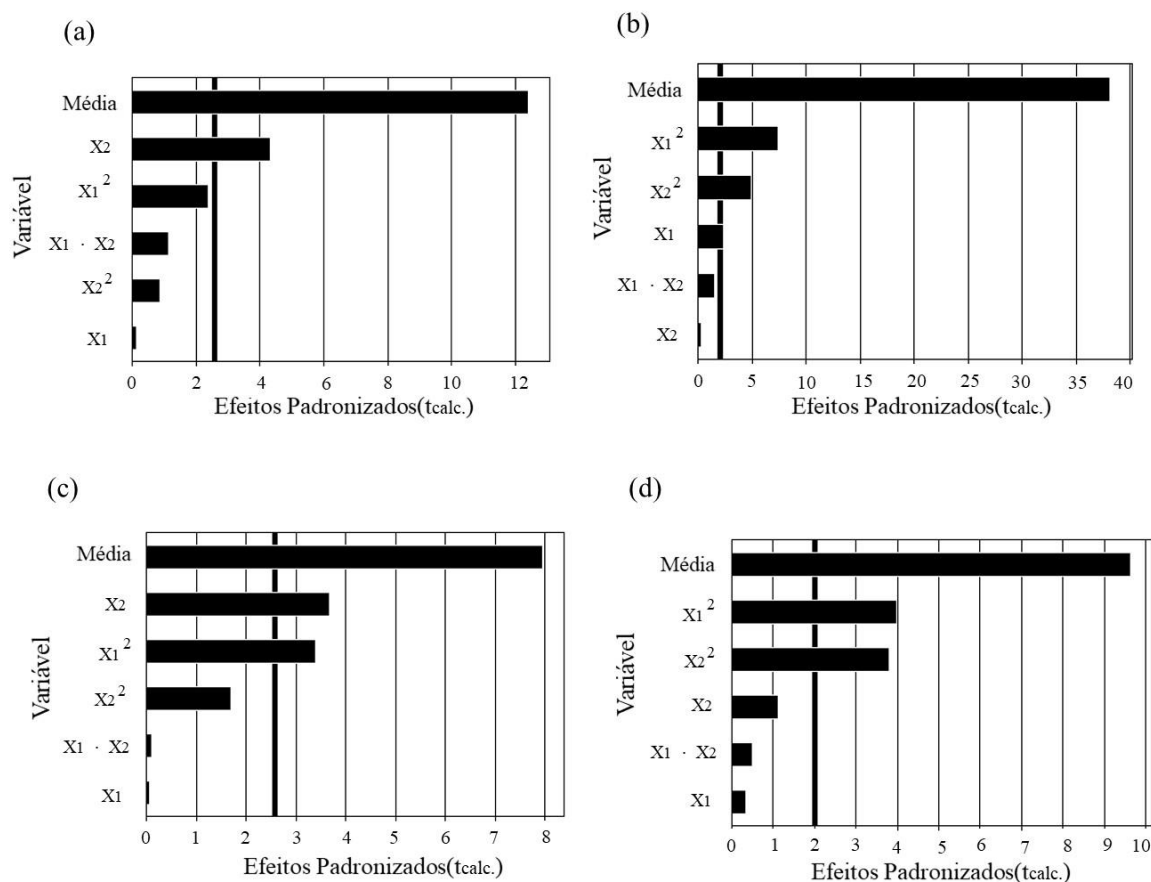
Figura 17- Gráficos da superfície de resposta efeito dos pré-tratamentos (a e b) alcalinos (c, e d) H₂O₂ para a Lignina Klason (KL) e o teor de lignina solúvel em ácido (ASL), respectivamente



A Figura 18 no gráfico de Pareto é observado efeito de interação do tempo de reação para o pré-tratamento alcalino (a e c), em ambas as respostas. Por outro lado, nas Figura 18(b) e (d) mostram o efeito de interação do tempo-temperatura para o pré-tratamento oxidativo.

No entanto, a temperatura de reação não mostrou um efeito de interação para ambas os pré-tratamentos. Como mostrado na Figuras 18(c) e (d), ambas as variáveis mostraram uma interação na resposta do ASL.

Figura 18 - Gráficos de Pareto para os efeitos dos pré-tratamentos (a e c) alcalinos e (b e d) H_2O_2 para a Lignina Klason (KL) e lignina solúvel, respectivamente.



A Tabela 7 mostra os dados da análise de variância (ANOVA). Com um alto coeficiente de determinação (R^2) os valores (exceto para KL e ASL em pré-tratamento ácido) indicaram que os modelos aqui desenvolvidos podem apresentar estimativas de respostas confiáveis dentro da faixa de condições no processo adotado (QING *et al.*, 2017), bem como boa correlação entre os valores experimentais e previstos.

Nos pré-tratamentos alcalino, peróxido e ácido para a resposta de rendimento de açúcares foi obtido bons pelo coeficiente de determinação, R^2 (0,83;0,84; 0,89), indicando que 83, 84 e 89%, do qual possibilitaram a verificação dos ajustes para os modelos às respostas observadas. Para a resposta ao rendimento de Lignina de Klason, somente os pré-tratamentos alcalino e peróxido foram obtidos bons coeficientes de determinação, R^2 (0,836 e 0,838), indicando que 83,6 e 83,8% a variância total em torno da média é explicada pela regressão.

Os F_{valores} foram maiores que os $F_{\text{tabelados}}$ (0,0005) na maioria dos modelos, sugerindo bons modelos de predição. Esse resultado indicou que o modelo foi significativo e apresentou

alto nível de confiança (95,0%). Os modelos tiveram efeitos significativos, porque o valor de p foi menor que 0,05, indicando que apenas 5% de chance de que um ' modelo F_{valor} ' possa ocorrer devido ao erro experimental (KIM et al., 2014; BURATTI et al., 2018).

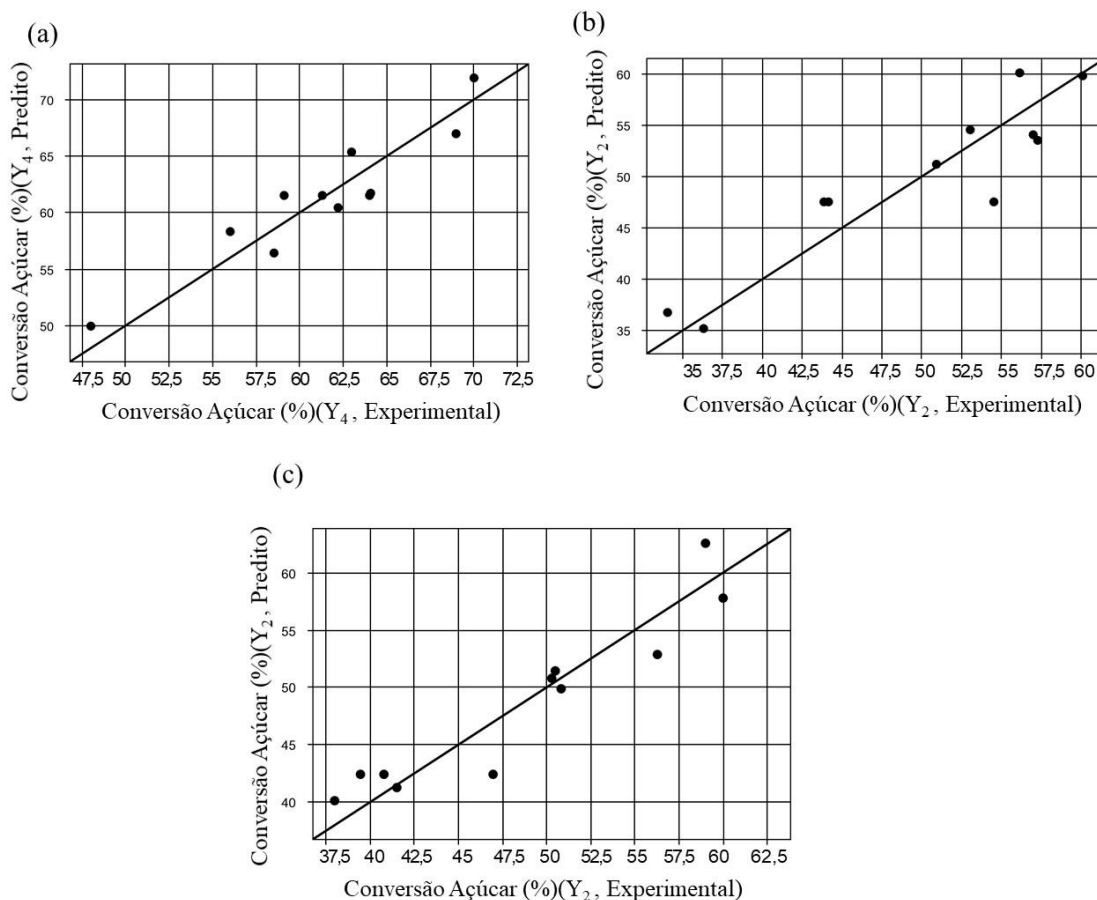
Tabela 7 - Análise de Variância (ANOVA) a partir de modelos quadráticos.

| Parâmetros | Pré-tratamento | R^2 | F_{valor} | $F_{\text{tabelado}}(0,05)$ | P_{valor} | Significância |
|---------------------|-------------------------------|-----------------|--------------------|-----------------------------|--------------------|--------------------------|
| Conversão de açúcar | Alcalino | 0,837 | 5,1 | | 0,044 | Significativo |
| Conversão de açúcar | H ₂ O ₂ | 0,843 | 5,4 | | 0,048 | Significativo |
| Conversão de açúcar | Ácido | 0,890 | 8,1 | | 0,019 | Significativo |
| KL | Alcalino | 0,836 | 5,1 | 5,05 | 0,047 | Significativo |
| KL | H ₂ O ₂ | 0,838 | 5,2 | | 0,048 | Significativo |
| KL | Ácido | <0,50 | - | | | Não Significativo |
| ASL | H ₂ O ₂ | 0,718 | 5,0 | | 0,050 | Significativo |
| ASL | Alcalino | 0,837 | 5,1 | | 0,048 | Significativo |
| ASL | Ácido | <0,50 | - | | - | Não Significativo |

Com base nos resultados da ANOVA mostrados anteriormente, os dados foram plotados em um gráfico e comparados aos valores preditos; apresentando resultados significativos para a resposta de rendimento de açúcares dos pré-tratamentos alcalino, peróxido e ácido (Figura 19).

Como pode ser observado na Figura 19, os modelos estimados podem ser utilizados para prever os valores de resposta na eficiência da conversão de açúcares fermentescíveis e calcular a condição ideal de pré-tratamento das variáveis estudadas (temperatura e tempo), revelando satisfatória concordância entre os dados reais e a linha de regressão.

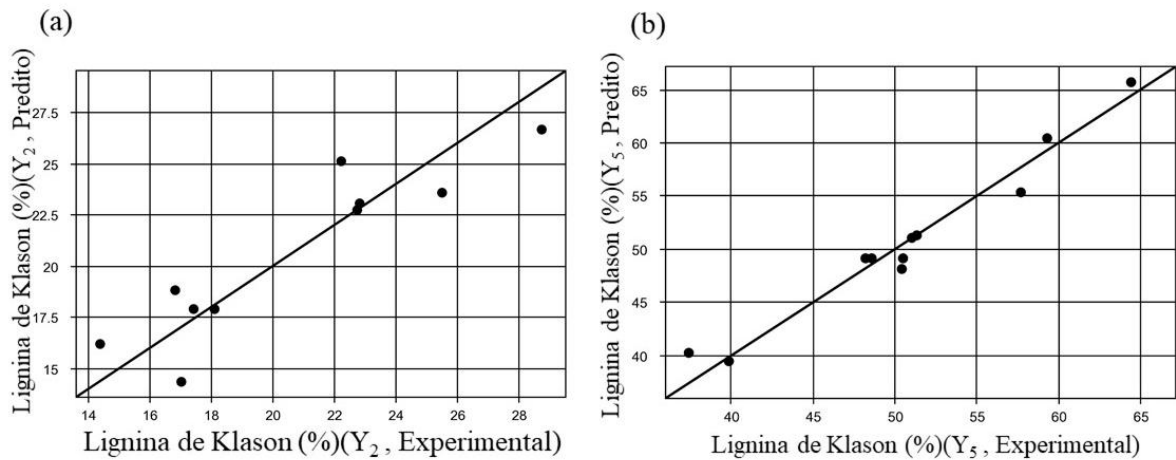
Figura 19 - Modelos de regressão dos valores experimentais vs. os valores preditos da superfície de resposta para os efeitos dos pré-tratamentos (a) alcalinos, (b) H₂O₂ (c) ácido descrevendo a eficiência na conversão de açúcar.



A Figura 20 mostra os modelos referindo-se aos dados para a resposta de Lignina de Klason dos pré-tratamentos alcalino e peróxido. Os dados obtidos para o modelo quadrático foram colocados em um gráfico e comparados aos valores preditos. Para o parâmetro ASL o modelo não apresentou valores significativos, dados não mostrados.

Como pode ser observado, na Figura 20a os resíduos apresentaram comportamento razoavelmente dispersos quando plotados em relação à resposta prevista. A Figura 20b exibiu uma tendência linear, o que representa que não há efeito de variação entre a resposta experimental e a resposta prevista (KAMALINI *et al.*, 2018). Assim, confirmam a adequação dos modelos propostos.

Figura 20 - Modelos de regressão dos valores experimentais *vs.* os valores preditos da superfície de resposta para os efeitos dos pré - tratamentos (a) alcalinos e (b) H₂O₂ para a Lignina Klason (KL).



5.3 Caracterização de biomassa bruta e pré-tratada

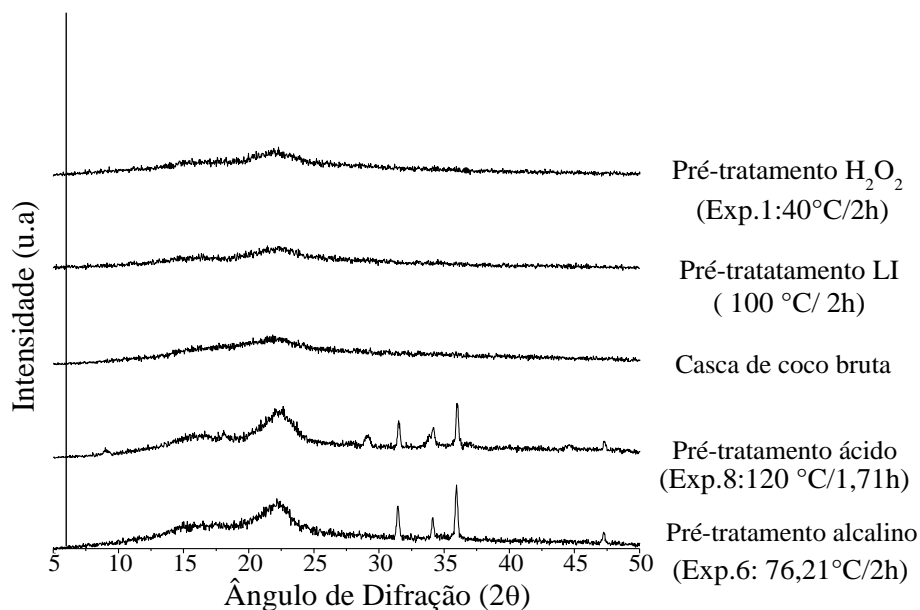
Os resultados do índice da cristalinidade, estrutura química e morfológica antes e depois da aplicação de pré-tratamentos são importantes para comparar os impactos nas alterações químicas e estrutural da superfície exterior e interior de uma biomassa lignocelulósica.

5.3.1 Efeito da cristalinidade na biomassa

A cristalinidade da celulose desempenha um papel importante que dominam a eficiência da hidrólise ácida/enzimática da celulose (QING *et al.*, 2017; SOMBATPRAIWAN *et al.*, 2019). Neste estudo, o índice de cristalinidade da biomassa foi determinado a partir dos padrões de difração de raios-X (DRX). A Figura 21 mostra a análise de DRX realizada avaliando as alterações da cristalinidade da celulose de coco antes e após os pré-tratamentos.

Os picos de difração de raios X mais intensos foram detectados em $2\theta=20^\circ/25^\circ$ e em $14^\circ/17^\circ$, antes e após os pré-tratamentos, indicando respectivamente a existência de regiões de celulose cristalinas e regiões amorfas (ZIDAN *et al.*, 2012). Os difratogramas dos pré-tratamentos alcalinos e ácido apresentaram picos estreitos no intervalo de $2\theta=31^\circ-36^\circ$, provavelmente indicando a presença de substâncias inorgânicas (cinzas) (RAMBO *et al.*, 2015). Foi observado que os difratogramas para os pré-tratamentos com líquido iônico e peróxido foram semelhantes com a amostra bruta.

Figura 21- Difratomogramas de raios-X de amostra de casca de coco bruta e pré-tratadas.

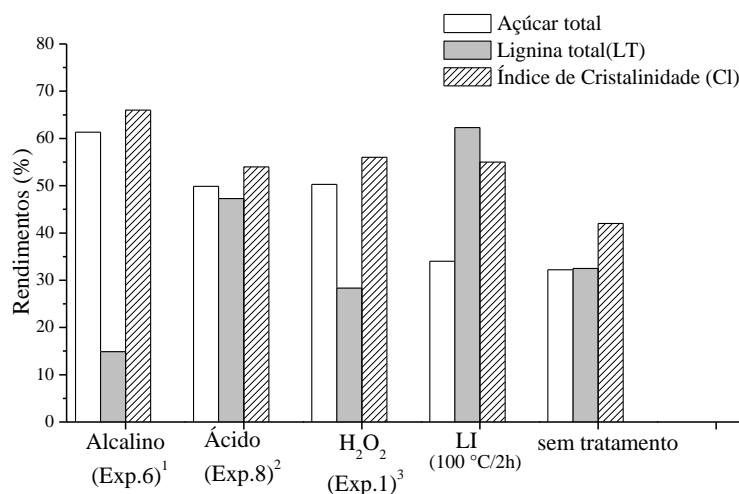


O índice de cristalinidade foi diretamente proporcional à conversão de açúcares (Figura 22), seguindo a ordem dos seguintes tratamentos: alcalino > peróxido > LI > ácido, para as amostras nas melhores condições. Para a remoção de lignina os pré-tratamentos alcalino e peróxido apresentaram os melhores resultados para essa proporcionalidade.

Os difratogramas das amostras pré-tratadas pelo método alcalino, com peróxido, LI e ácido sulfúrico apresentaram diferenças na intensidade da difração de raios- X, em comparação com a casca de coco não tratada, o que se reflete diretamente no teor de cristalinidade, com valores de 65,6%, 56%, 55% e 54%, respectivamente, quando comparados aos 42% da amostra bruta. Esses valores estão de acordo com os resultados reportados para o rizoma de mandioca bruta (30,39%), em que apresentaram significativamente índices maiores para a biomassa pré-tratada (SOMBATPRAIWAN *et al.*, 2019).

O pré-tratamento alcalino resultou em maiores níveis de cristalinidade da biomassa. Este pré-tratamento aumentou a cristalinidade da biomassa, pois provavelmente rompe as ligações de hidrogênio intra e intermoleculares na celulose (TORR *et al.*, 2016). O aumento da cristalinidade indica que o pré-tratamento alcalino afetou a solubilização da celulose amorfa quando foi comparado com a celulose na sua forma cristalina (KOGUT *et al.*, 2017). Conseqüentemente, degradou componentes não celulósicos, como a hemicelulose e a lignina, aumentando consideravelmente o rendimento de açúcares fermentáveis.

Figura 22- Efeito de diferentes pré-tratamentos na conversão de açúcar, teor de lignina total extraído e índice de cristalinidade.



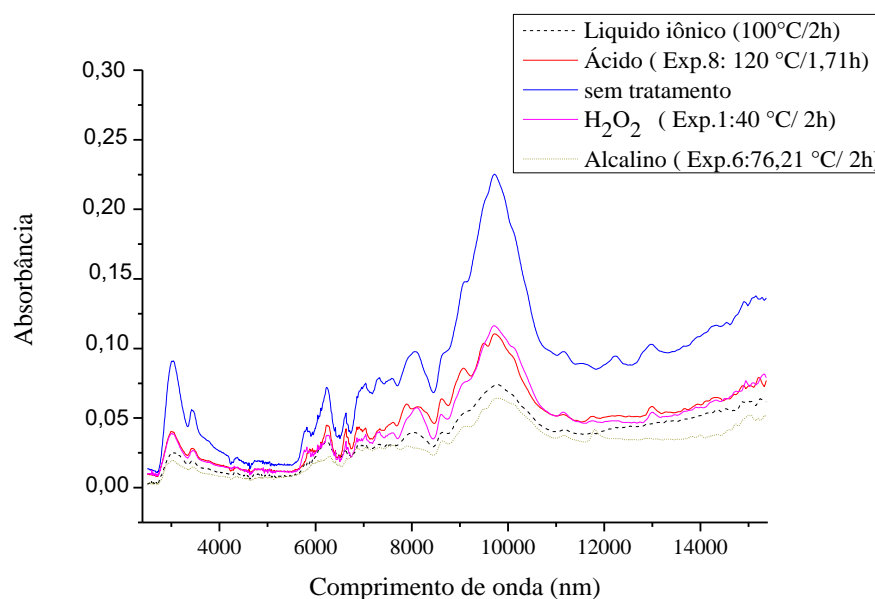
Nota: ¹ Experimento 6: 76,21 °C/ 2 h; ² Experimento 8: 120 °C/ 1,71 h); ³ Experimento 1: 40 °C /2 h.

5.3.2 Efeito na estrutura química e morfológica da biomassa

A estrutura química, bem como os grupos químicos funcionais foram analisados com base na aplicação do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) nas amostras não tratadas e pré-tratadas (Figura 23). Pré-tratamentos efetivos supostamente induzem mudanças substanciais nos componentes da biomassa; tais mudanças que podem ser vistas em variações de grupos funcionais.

As características espectrais dos grupos funcionais apresentaram alterações relevantes na biomassa de casca de coco sem pré-tratamento e pré-tratadas. A banda de absorção mais forte (9500- 9525 nm) foi observado em todos os espectros, e este resultado indicou uma vibração com deformação axial e angular de ligação C-O, presentes na celulose/hemicelulose e lignina (ANG et al., 2012).

Figura 23- Espectros de FTIR das amostras brutas e pré-tratadas.



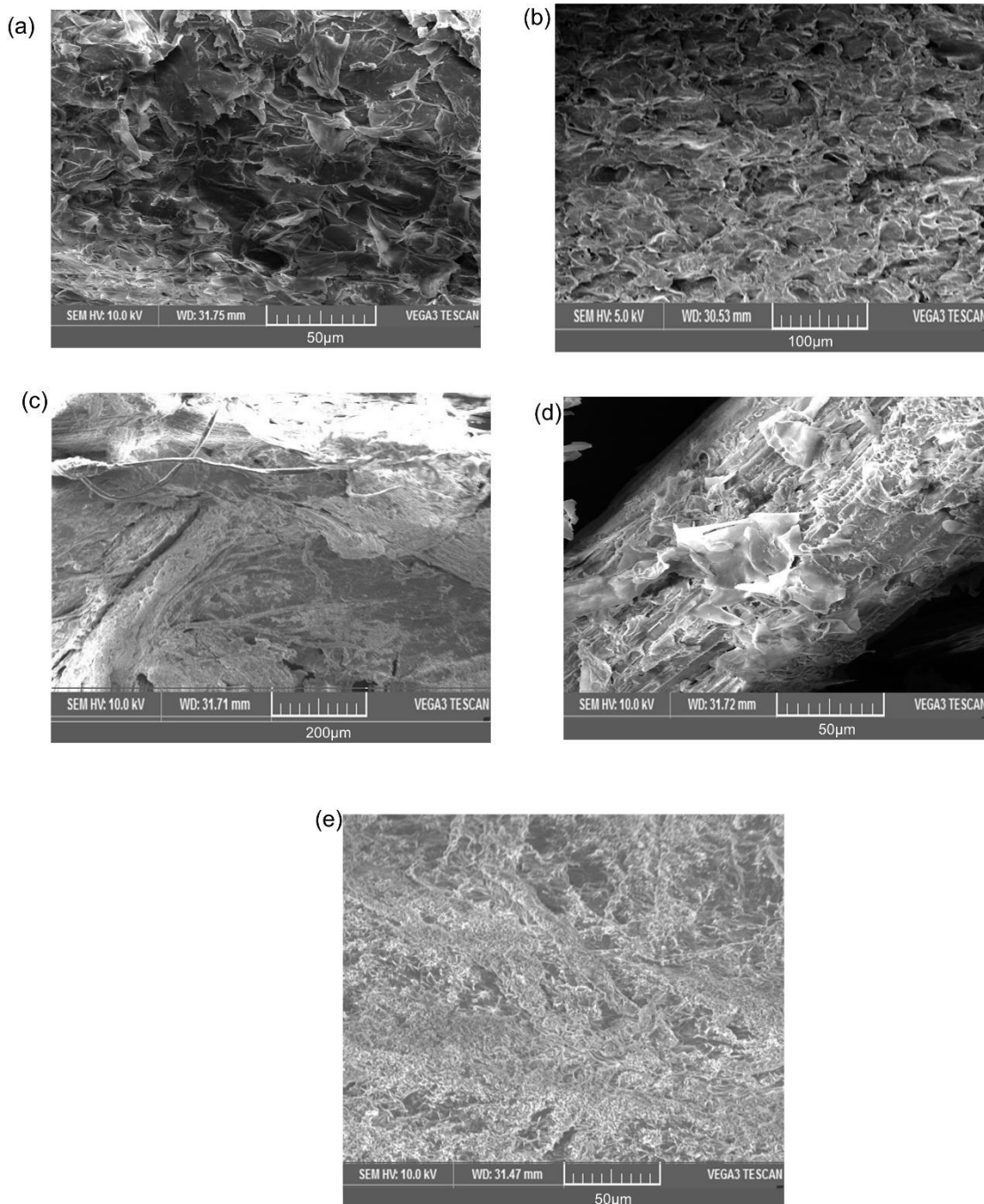
Outra banda forte (no comprimento de onda aproximadamente 3400 nm) foi atribuída a ligação de hidroxila OH (OH associado), do qual indica rupturas de ligação de H na celulose (HE et al., 2008) explicando uma maior absorção no espectro na amostra sem pré-tratamento e nos pré-tratamentos uma leve mudança. A estrutura química da celulose foi preservada.

O pico de intensidade decrescente no comprimento de onda 5813 nm foi associado aos grupos acetila (vibração de deformação axial de duplas ligações C=O) das hemiceluloses. Portanto, é possível atribuir a perda desses componentes aos pré-tratamentos mais severos. A lignina no pré-tratamento alcalino registrou picos em comprimentos de onda entre 6250 nm e 9500 nm (CASAS et al., 2013; SUN et al., 2013). Os picos de intensidade a 6289 nm e 6666 nm foram característicos de vibrações de núcleos aromáticos C = C nas estruturas de lignina.

Bandas de absorção de frequência mais baixas foram registradas para os pré-tratamentos ácido, alcalino, líquido iônico e peróxido. Esse desfecho foi associado à remoção da lignina após a aplicação desses pré-tratamentos. O pico no comprimento de onda de 9600 nm foi característico do estiramento de C-O em álcoois primários (SUN et al., 2013). Essa alteração foi provavelmente associada à fração diminuída de hemicelulose após a aplicação das condições mais severas.

A estrutura e morfologia das biomassas sem pré-tratamentos, bem como a biomassa pré-tratadas com soluções (alcalina, peróxido, ácida e líquido iônico), foram examinados através da microscopia MEV, os quais apresentaram mudanças estruturais.

Figura 24.- As imagens MEV das amostras (a) não tratadas cascas de coco e pré-tratadas com (b) H_2O_2 , (c) ácido, (d) alcalina, e (e) o líquido iônico.



Com base nas imagens MEV na Figura 24, as biomassas de casca de coco sem pré-tratamento (Figura 24a) mostraram uma estrutura lisa e bem ordenada, sem danificações. As amostras pré-tratadas com soluções de peróxido (Figura 24b), apresentaram leves alterações morfológicas em comparação com as amostras sem pré-tratamentos.

Nas Figuras 24c e 24d foram visíveis as mudanças na estrutura e morfologia das biomassas, evidenciado pela separação das fibras, submetidos aos pré-tratamentos alcalinos e ácidos, respectivamente. Estes resultados podem ser característicos da remoção de hemiceluloses e lignina (QING *et al.*, 2017).

A morfologia da superfície da biomassa de casca de coco após a aplicação do pré-tratamento líquido iônico resultou no inchamento das frações da biomassa, embora a organização das fibras e sua estrutura se manteve (Figura 24e). O rompimento de algumas fibras, facilitou o aumento da área de superfície (UJU *et al.* 2016; CHENG *et al.* 2017).

6 CONCLUSÃO GERAL

Com a aplicação de um pré-tratamento adequado é possível aproveitar integralmente resíduos de casca de coco verde e converter em fontes específicas de carboidratos na produção de produtos químicos. Através da otimização do procedimento experimental, as variáveis da temperatura e tempo dos pré-tratamento são analisadas nas liberações totais de açúcares durante os estágios de pré-tratamento e hidrólise ácida em frações de coco verde.

O maior rendimento de açúcar e as taxas de remoção de lignina foram registrados no pré-tratamento alcalino realizado a 76,21 °C, com uma reação de duas horas. Com aumento de 3 vezes o rendimento de açúcar (70,0%) das amostras de casca de coco, em comparação com amostras não tratadas de coco (32,2%). O pré-tratamento ácido permitiu 55% de teor total de açúcar nas melhores condições, seguido pelo tratamento com solução de peróxido. A adoção do pré-tratamento com líquido iônico não aumentou o teor de açúcar.

As abordagens estatísticas mostraram que os modelos desenvolvidos foram adequados e descreveram a correlação entre variáveis e resposta ($R > 0,83$), exceto para os modelos ASL, que registraram R como 0,71 e 0,77 para os pré-tratamentos de peróxido, embora fossem vistos como apropriado e aceito.

A DRX, MEV e FTIR realizadas nos pré-tratamentos estão de acordo com a composição química da biomassa, confirmando uma estrutura organizada na biomassa lignocelulósica bruta. A estrutura química das amostras mudou após a aplicação dos pré-tratamentos adotados; A cristalinidade da biomassa aumentou com base na severidade do pré-tratamento, enquanto o grau de polimerização diminuiu e a acessibilidade da celulose mostrou melhorias.

REFERÊNCIAS

AGUILAR, R.; RAMÍREZ, J.A. GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. **Journal of Food Engineering**, v. 55, p. 309-318, 2002.

ALBUQUERQUE, T. L.; SILVA JR, I. J.; MACEDO, G. R; ROCHA, M. V. P. Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: A review. **Process Biochemistry**, v. 49, p. 1779- 1789, 2014.

ALI, N.; GIWA, A.S.; ABDALLA, M.; LIU, X. Alkaline hydrogen peroxide pretreatment of bamboo culm for improved enzymatic release of Reducing sugars using recombinant cellulases. **Cellulose**, v. 27, p. 769-779, 2020.

AMICK, C. J.; FRAENKEL, L. E. TOLAND, J. F. On the Stokes conjecture for the wave of extreme form. **Acta mathematica**, v. 148, p. 193- 214, 1982.

AMIN, F. R.; KHALID, H.; ZHANG,H.; RAHMAN, S.; ZHANG, R.; LIU,G.;CHEN,C. Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. **AMB Express**, v. 7.p 72, 2017

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

ANG, T. N., NGOH, G. C., CHUA, A. S. M., AND LEE, M. G. Elucidation of the effect of ionic liquid pretreatment on rice husk via structural analyses. **Biotechnology Biofuels**, v. 5, p. 67,2012.

ARAÚJO, C. K. C., OLIVEIRA C. A., ARAÚJO, P. C. E., SOUSA JÚNIOR, F. C., NASCIMENTO, R. J. A., MACEDO, G. R., AND SANTOS, E. S. Enhancing enzymatic hydrolysis of coconut husk through *Pseudomonas aeruginosa* AP 029/GLVIIA rhamnolipid preparation. **Bioresource Technology**, v. 237, p. 20-26,2017.

ASIM, A. M.; UROOS, M.; SULTAN, M. GRIFFIN, G.; MUHAMMAD, N.; KHAN, A. S. Acid ionic liquids: Promising and cost-effective solvents for processing os lignocellulosic biomass. **Journal of Molecular Liquids**, v. 287, p. 110943, 2019.

ASTM D 3173-87. **Standard method for determination os moisture contente in biomass**, 2003.

ASTM D 3174-04. **Standard method for ash in the analysis sample of coal and coke**, 2004;

ASTM D 3175-07. **Standard method for volatile matter in the analysis sample of coal**, 2007.

BAZARGAN, A.; WANG, Z.; BARFORD, J.P.; SALEEM, J.;MCKAY, G.; Optimization of the removal of lignin and silica from rice husks with alkaline peroxide.**Journal of Cleaner Production**, v. 4, 120848, 10.1016/j.jclepro.2020.120848, 2020.

BEZERRA, M.A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L.A. Response surface methodology(RSM)as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v.76, p. 965-977, 2008.

BRAINER, M. S. C. P. Produção de coco: O Nordeste é destaque nacional. Caderno Setorial ETENE. Ano 3. Dezembro, 2018.

BRIENZO, M.; FERREIRA, S.; VICENTIM, M. P.; SOUZA, W.; SANTANNA, C. Comparison Study on the Biomass Recalcitrance of Different Tissue Fractions of Sugarcane Culm. **BioEnergy Research**, v. 7, p. 1454-1465, 2014.

BRIENZO, M.; ABUD, Y.; FERREIRA, S.; CORRALES, R. C. N. R.; LEITÃO, V. S. F.; SOUZA, W.; SANTANA, C. Characterization os anatomy, lignin distribution, and response to pretreatments of sugarcane culm node and internode. **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 305-313, 2016.

BRIENZO, M.; FIKIZOLO, S.; BENJAMIN, Y.; TYHODA, L.; GORGENS, J. Influence of pretreatment severity on structural changes, lignin content and enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse sample. **Renewable Energy**, v. 104, p. 271-280, 2017.

BURATTI, C.; FOSCHINI, D. BARBANERA, M.; FANTOZZI, F. Fermentable sugars production from peach ter prunings: Response surface model optimization of NaOH alkaline pretreatment. **Biomass and Bioenergy**, v.112, p.128-137, 2018.

CABRAL, M.M.S. **Aproveitamento da casca de coco verde para a produção de etanol de segunda geração**. 2015. 74 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Alagoas, Centro de Tecnologia, Alagoas, 2015.

CABRAL, M. M. S.; ABUD, A. K. S; SILVA, C. E. F; ALMEIDA, R. M. R. G. Bioethanol production from coconut husk fiber. **Food Technology**, v. 46, p. 1872-1877, 2016.

CABRAL, M. M. S.; ABUD, A. K. S.; ROCHA, M. S. R. S.; ALMEIDA, R. M. R. G.; GOMES, M. A. Composição da fibra da casca de coco verde *in natura* e após pré-tratamentos químicos. **Engevista**, v. 19, p. 99-108, 2017.

CASAS, A., OLIET, M., ALONSO, M. V., SANTOS, T. M., RODRIGUEZ, F. Dissolution of *Pinus radiata* and *Eucalyptus globulus* in 1-Allyl-3-methylimidazolium chloride for regeneration of cellulose or lignin. **Ind. Eng. Chemistry. Res**, v. 52, p. 3628-3636, 2013.

CHENG, J.; ZHANG, J.; LIN, R.; LIU, J.; ZHANG, L.; CEN, K. Ionic-liquid pretreatment of cassava residues for the cogeneration of fermentative hydrogen and methane. **Bioresource Technology**, v. 228, p. 348- 354, 2017.

CHOI, J. H.; JANG, S. K.; KIM, J. H.; PARK, S. Y.; KIM, J. C.; JEONG, H.; KIM, H. Y.; CHOI, I. G. Simultaneous production of glucose, furfural, and ethanol Organosolv lignin for total utilization of high recalcitrant biomass by Organosolv Pretreatment. **Renewable Energy**, v. 130, p. 952-960, 2019.

CLARKSON, M. A. Challenges of chemical pretreatment of lignocellulosic Biomass for Biofuel production. **International Journal of Multidisciplinary**, v. 3, p. 1-35, 2018.

DING, K.; LE, Y.; YAO, G.; MA, Z.; JIN, B.; WANG, J.; JIN, F. A rapid and efficient hydrothermal conversion of coconut husk into formic acid and acetic acid. **Process Biochemistry**, v. 68, p. 131-135, 2018.

DUTRA, E. D.; SANTOS, F. A.; ALENCAR, B. R. A.; REIS, A. L. S.; SOUZA, R. F. R.; AQUINO, K. A. S.; MORAIS JR., M.A.; MENEZES, R. S. C. Alkaline hydrogen peroxide pretreatment of lignocellulosic biomass: status and perspectives. **Biomass Conversion Biorefinery**, v. 8, p. 225-234, 2018.

MARAFON, A.C.; NUNES, M. U. C.; AMARAL, A. F. C. SANTOS, J. P. Aproveitamento de cascas de coco para geração de energia térmica: potencialidades e desafios. Documento 234. Embrapa Tabuleiros Costeiros. Dezembro, 2019. ISSN 1678-1953

GILMOUR, S. G. Response Surface Designs for Experiments in Bioprocessing. **Biometrics**, v. 62, p. 323-331, 2006.

GARCÍA, S. G.; GULLÓN, B.; FEIJOO, G.; MOREIRA, M. T. Environmental performance of biomass refining into high-added value compounds. **Journal of Cleaner Production**, v. 120, p. 170- 180,2016.

GONÇALVES, F. A.; RUIZ, H. A.; SANTOS, E. S.; TEXEIRA, J. A.; MACEDO, G. Bioethanol production from coconut and cactus pretreated by autohydrolysis. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. 1-12, 2015.

GUO, X. J.; WANG, S. R.; WANG, K. G.; LIU, Q.; LUO, Z. Y. Influence of extractives on mechanism of biomass pyrolysis. **Journal of Fuel Chemistry and Technology**, v. 38, p. 42-46, 2010.

HASSAN, S.S.; WILLIAMS, G. A.; JAISWAL, A. K. Emerging Technologies for the pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 262, p. 310-318, 2018.

HAYES, D. J.; ROSS, J.; HAYES, M. H.; FITZPATRICK, S. The biofine Process: Production of Levulinic Acid, Furfural and Formic Acid from Lignocellulosic Feedstocks. **Biorefinery**, v. 245,2006.

HE, Y., PANG, Y., LIU, Y., LI, X., AND WANG, K. Physicochemical characterization of rice straw pretreated with sodium hydroxide in the solid state for enhancing biogas production. **Energy Fuel**, v. 22, p. 2775-2781,2008.

HO, M.C.; ONG, V. Z.; WU, T. Y. Potential use of alkaline hydrogen peroxide in lignocellulosic biomass pretreatment and valorization- A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 112, p. 75-86, 2019.

HUANG, C.; FANG, G.; YU, L.; Zhou, Y.; MENG, X.; DENG, Y.; SHEN, K; RAGAUSKAS, A. J. **Bioresource Technology**, v. 299, p. 122568, 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE/LSPA. **Levantamento sistemático da Produção Agrícola**. Fortaleza: IBGE/GCEA-CE. Dezembro. Séries 2016, 2017 e 2018. Documento impresso.

JANG, S. K.; KIM, J. H.; JEONG, H. CHOI, J. H.; LEE, S. M.; CHOI, I. G. Investigation of conditions for dilute acid pretreatment for improving xylose solubilization and glucose production by supercritical water hydrolysis from *Quercus mongolica*. **Renewable Energy**, v. 117, p. 150- 156, 2018.

JEFFRIES, T. W. Utilization of xylose by bacteria, yeasts, and fungi. **Advances Biochemical Engineering Biotechnology**, v. 27, p. 1-32,1983.

JIN, Q.; YANG, L.; POE, N.; HUANG, H. Integrated processing of plant-derived waste to produce value-added products based on the biorefinery concept. **Trends in Food Science & Technology**, v. 74, p. 119-131, 2018.

JUAN, G. X.; RONG, W. S.; GE, W. K.; QIAN, L.; YANG, L. Z. Influence of extractives on mechanism of biomass pyrolysis. *Journal of Fuel Chemistry and Technology*, v. 38, p. 42-46, 2010.

KAMALINI, A.; MUTHUSAMY, S.; RAMAPRIYA, R.; MUTHUSAMY, B. ; PUGAZHENDHI, A. Optimization of sugar recovery efficiency using microwave assisted alkaline pretreatment of cassava stem using response surface methodology and its structural characterization. **Journal of Molecular Liquids**, v. 254, p. 55-63,2018.

KIM, I.; REHMAN, M. S. U.; HAN, J. I. Enhanced glucose yield and structural characterization of corn stover by sodium carbonate pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 152, p. 316-320,2014.

KIM, J. S.; LEE, Y. Y.; KIM, T. H. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 42–48, 2016.

KOGUT, S. M., ZGÓRSKA, K., KOGUT, T., KUKIELKA, K., WOJDALSKI, J., KUPCZYK, A., DRÓZDŹ, B., AND WIELEWSKA, I. The use of ionic liquid pretreatment of rye straw for bioethanol production. **Fuel**, v. 191, p. 266-274,2017.

LI, Y.; CUI, J.; ZHANG, G.; LIU, Z.; GUAN, H., HWANG, H.; AKER, W. G.; WANG, P. Optimization study on the hydrogen peroxide pretreatment and production of bioethanol from seaweed *Ulva polifera* biomass. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 144-149, 2016.

MAGEE, R. J.; KOSARIC, N.; Bioconversion of hemicellulosics. **Advances Biochemical Engineering Biotechnology**, v. 32, p. 62-93, 1985.

MONTE, J.R., BRIENZO, M., MILAGRES, A.M.F. Utilization of pineapple stem juice to enhance enzyme-hydrolytic efficiency for sugarcane bagasse after an optimized pretreatment with alkaline peroxide. **Appl. Energy**, v. 88, p. 403–408, 2010.

MUHARJA, M; JUNIANTI, F.; RANGGINA, D.; NURTONO, T.; WIDJAJA, A.. An integrated green process: Subcritical water, enzymatic hydrolysis, and fermentation, for biohydrogen production from coconut husk. **Bioresource Technology**, v. 249, p. 268–275, 2018.

- NEUSCHILD, S. F.; BOUCHER, E.; VERNAL, A. GÉLINAS, Y.; LECLERC, P. **Denfrochronologia**, v. 36, p. 45-48, 2015.
- NREL/TP-510-42619: Determination of Extractives in Biomass. Biomass Analysis Technology Team Laboratory Analytical Procedure, **National Renewable Energy Lab**, 2011.
- NOGUEIRA, C. C.; PEDILHA, C. E. A.; JESUS, A. A.; SOUZA, D. F. S.; ASSIS, C. F.; JUNIOR, F. C. S.; SANTOS, E. S. Pressurized pretreatment and simultaneous saccharification and fermentation with in situ detoxification to increase bioethanol production from green coconut fibers. **Industrial Crops & Products**, v. 130, p. 259-266, 2019.
- NIJU, S.; SWATHIKA, M. Delignification of sugarcane bagasse using pretreatment strategies for bioethanol production. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, p. 101263, 2019.
- OLIVEIRA, J. C.; SOUSA, A.; SILVA, G. V.; FREITAS, S. S.; JUNIOR, J. J. M. Análise do **Impacto ambiental da casca do coco nas praias do Cabo Branco, Manáira e Tambau e a futura geração das placas de Isolamento termo acústico como solução, no Município de João Pessoa /PB**. In: Anais do Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental e Sustentabilidade, v. 6, 2018, João Pessoa. Anais...João Pessoa: FPB, 2018.
- PAPA, G.; FELDMAN, T.; SALE, K. L.; ADANI, F.; SINGH, S.; SIMMONS, B. A. Parametric study for the optimization of ionic liquid pretreatment of corn stover. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 627-637, 2017.
- PATIÑO, J. C. M.; RUIZ, E.; ROMERO, I.; CARA, C.; LINARES, J. C. L.; CASTRO, E. Combined acid/alkaline-peroxide pretreatment of olive tree biomass for bioethanol production. **Bioresource Technology**, v. 239, p. 326-335, 2017.
- QING, Q.; GUO, Q.; ZHOU, L.; GAO, X.; LU, X.; ZHANG, Y. Comparison of alkaline and acid pretreatments for enzymatic hydrolysis of soybean hull and soybean straw to produce fermentable sugars. **Industrial Crops & Products**, v. 109, p. 391-397, 2017.
- RAFIQUI, I. S. M.; SAKINAH, A. M. M. Kinetic studies on acid hydrolysis of *Meranti* wood sawdust for xylose production. **Chemical Engineering Science**, v. 71, p. 431-437, 2012.
- RAM, M., AND MONDAL, K. Comparative study of native and impregnated coconut husk with pulp and paper industry waste water for fuel gas production. **Energy**, v. 156, p. 122-131, 2018.
- RAMBO, M. K. D. **Caracterização de resíduos lignocelulósicos por espectroscopia NIR aliada à quimiometria para a obtenção de insumos químicos**. 182 f. 2013. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013a
- RAMBO, M. K. D.; BEVILAQUA, D. B.; BRENNER, C. G. B.; MARTINS, A. F. Xylitol from rice husks by acid hydrolysis and *Candida* yeast fermentation. **Química Nova**, v. 36, n. 5, p. 634-639, 2013b.

- RAMBO, M.K.D.; SCHMIDT, F.L.; FERREIRA, M.M.C. Analysis of the lignocellulosic components os biomass residues for biorefinery opportunities. **Talanta**, v. 144, p. 696-703, 2015.
- RAUND, M.; KIKAS, T.; SIPPULA, O.; SHURPALI, N. J. Potentials and challenges in lignocellulosic biofuel production technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 111, p. 44-56, 2019.
- REZENDE, D.; MELO, J. W. S.; OLIVEIRA, J. E. M.; GONDIM JR., M. G. C. Estimated crop loss due to coconut mite and financial analysis of controlling the pest using the acaricide abamection. **Experimental and Applied Acarology**, v. 69, p. 297-310, 2017.
- RODRIGUES, G. S.; MARTINS, C.R.; BARROS, I. Sustainability assessment of ecological intensification practices in coconut production. **Agricultural Systems**, v. 165, p. 71-84, 2018.
- RODRÍGUEZ, S. B., TOQUERO, C., MARTÍN-JUÁREZ, J., TRAVAINI, R., AND GARCÍA-ENCINA, P. A. Effect of thermal, acid, alkaline and alkaline-peroxide pretreatments on the biochemical methane potential and kinetics of the anaerobic digestion of wheat straw and sugarcane bagasse, **Bioresource Technology**, v. 201, p. 182-190, 2016.
- ROSDIANA, N. A. DUMARÇAY, S.; GÉRARDIN, C.; CHAPUIS, H.; MEDINA, J. S.; SARI, R. K.; SYAFII, W.; GELHAYE, E.; RAHARIVELOMANANA, P.; MOHAMMED, R.; GÉRARDIN, P. Characterization of bark extractives os different industrial Indonesian wood species for potential valorization. **Industrial Crops & Products**, v. 108, p. 121-127, 2017.
- SAHA, S.; JEON, B. H.; KURADE, M. B.; JADHAV, S. B.; CHATTERJEE, P. K.; CHANG, S. W.; GOVINDAWAR, S. P.; KIM, S.J. Optimization of dilute acetic acid pretreatment of mixed fruit waste for increased methane production. **Journal of Cleaner Production**, v. 190, p. 411-421, 2018.
- SANCHEZ, Ó. J.; CARDONA, C. A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5270–5295, 2008.
- SANTOS, A. C.; XIMENES, E.; KIM, Y.; LADISCH, M. R. Lignin-Enzyme Interactions in the Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass. **Trends Biotechnology**, v. 37, 2019.
- SEIDL, P. R., GOULART, A. K. Pretreatment processes for lignocellulosic biomass conversion to biofuels and bioproducts. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 2, p. 48-53, 2016.
- SEGAL, L., CREELY, J. J, MARTIN, A. E. E. CONRAD, CM. Um método empírico para estimar o grau de cristalinidade da celulose nativa usando o difratômetro de raios X. **Textile Research Journal**, v. 29, n. 10, p. 786-794, 1959.
- SHAHABAZUDDIN, M., CHANDRA, T. S., MEENA, S., SUKUMARAN, R. K., SHETTY, N. P., AND MUDLIAR, S. N. Thermal assisted alkaline pretreatment of rice husk for enhanced biomass deconstruction and enzymatic saccharification: Physico-chemical and structural characterization. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 199-206, 2018.

- SHIMIZU, F. L.; MONTEIRO, P. Q.; GHIRALDIA, P. H. C.; MELATI, R. B.; PAGNOCCAC, F. C., SOUZAD, W.; SANT'ANNA, C.; BRIENZO, M.. Acid, alkali and peroxide pretreatments increase the cellulose accessibility. **Industrial Crops & Products**, v. 115, p. 62–68, 2018.
- SLATHLA, P. S.; RAINA, N.; KOUR, R.; BHAGAT, D.; SHARMA, P. Dilute acid pretreatment of pine needles os *Pinus roxburghii* by response surface methodology for bioethanol production by separate hydrolyss and fermentation. **Biomassa Conversion and Biorefinery**, v. 10, p. 95-106, 2020.
- SOARES ,J.; DEMEKE ,M. M., MORENO ,M. R. F.; VELDE, M. V.; FERNANDES, P. M. B. Green coconut mesocarp pretreated by an alkaline process as raw material for bioethanol production. **Bioresource Technology**, v. 216, p. 744-753,2016.
- SOMBATPRAIWAN, S.; JUNYUSEN, T.; TREEAMNAK, T. Optimization of microwave-assisted alkali pretreatment of cassava rhizome for enhanced enzymatic hydrolysis glucose yield. **Food and Energy Security**, v. 3, p. 174, 2019.
- SLUITER, A., HAMES, B., RUIZ, R., SCARLATA, C., SLUITER, J., TEMPLETON, D., AND CROCKER, D. *Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass* (NREL/TP-510-42618), National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO, 2008.
- SUN, S. N., LI, M. F., YUAN, T. Q., XU, F., SUN, R. C. Effect of ionic liquid/organic solvent pretreatment on the enzymatic hydrolysis of corncob for bioethanol production. Part 1: Structural characterization of the lignins, **Industrial Crops & Products**, v. 43, p. 570-577, 2016.
- SUTANO, S.; GO, A. W.; CHEN, K. H.; NGUYEN, P. L. T.; ISMADJI, S.; JU, Y. H. Release of sugar by acid hydrolysis from rice bran for single cell oil production and subsequent *in-situ* transesterification for biodiesel preparation. **Fuel Processing Technology**, v. 167, p. 281-291, 2017.
- TELLERA, M. B.; TURBAY, C.; FAVARATO, L.; CARNEIRO, T.; BIASI, R. S.; FERNANDES, A. A .R.; SANTOS, A. M.C.; FERNANDES, P. M.B. Second-Generation Bioethanol from Coconut Husk. **BioMed Research International**, v. 2018, p. 1-20, 2018.
- TIAN, S. Q.; ZHAO, R. Y.; CHEN, Z. C. Review of the pretreatment and bioconversion os lignocellulosic biomass from wheat straw materials. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 91, p. 483 - 489,2018.
- TORR, K. M., LOVE, K. T., SIMMONS, B. A., AND HILL, S. J. Structural features affecting the enzymatic digestibility of pine wood pretreated with ionic liquids. **Biotechnology Bioengineering**, v. 113, p. 540-549, 2016.
- UJU, GOTO, M., AND KAMIYA, N. Powerful peracetic acid-ionic liquid pretreatment process for the efficient chemical hydrolysis of lignocellulosic biomass, **Bioresource Technology**, v. 214, p. 487-495, 2016.
- VERARDI, A.; BLASI, A.; MARINO, T.; MOLINO, A; CALABRÓ. Effect of steam-pretreatment combined with hydrogen peroxide on lignocellulosic agricultural wastes for

bioethanol production: Analysis of derived sugars and other by-products. **Journal of Energy Chemistry**, v. 27, p. 535- 543,2018.

VISVANATHAN, R.; JAYATHILAKE, C.; RUVINI, L. A simple microplate-base method for the determination of α -amylase activity using the glucose assay kit (GOD method). **Food Chemistry**, v. 211, p. 853-859, 2016.

XU, J.; LIU, B.; HOU, H.; HU, J. Pretreatment of eucalyptus with recycled ionic liquids for low-cost biorefinery. **Biorecourse Technology**, v.234, p. 406-414,2017.

ZHAO, X.; ZHANG, L.; LIU, D. Biomass recalcitrance. Part II: Fundamentals of different pre-treatments to increase the enzymatic digestibility of lignocellulose. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 6, p. 561-579, 2012.

ZIDAN, A.S.; RAHMAN, Z.; SAYEED, V.; RAW, A.; YU, L.; KHAN, M. A. Crystallinity evaluation of tacrolimus solid dispersions by chemometric analysis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 423, p. 341-350, 2012.

ZHANG, Q.; HU, J.; LEE, D. J. Pretreatment of Biomass using ionic liquids: Research updates. **Renewable Energy**, v. 111, p. 77-84,2017.

YAO, L., YANG, H.; YOO, C.G.; PU, Y.; MENG, X.; MUCHERO, W.; TUSKAN, G.A.; TSCHAPLINSKI, T.; RAGAUSKAS, A. J. Understanding the influences of different pretreatments on recalcitrance of Populus natural variants. **Bioresource Technology**, v. 265, p. 75-81,2 018.

YAHAYA, A. Z.; SOMALU, M. R.; MUCHTAR, A.; SULAIMAN, S. A.; DAUD, W. R. W. Effects of temperature on the chemical composition of tars produced from the gasification of coconut and palm kernel shells using downdraft fixed-bed reactor. **Fuel**, v. 265, 116910, 2020.

YU, Z.; DU, Y.; SHANG, X.; ZHENG, Y.; ZHOU, J. Enhancing fermentable sugar yields from cassava residue using a two-step dilute ultra-low acid pretreatment process. **Industrial Crops & Products**, v. 124, p. 555- 562, 2018.

YUAN, Z.; WEN, Y.; LI, G. Production of bioethanol and value added compounds from wheat straw through combined alkaline/alkaline-peroxide pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 259, p. 228-236, 2018.

WANG, W.; WANG, X. ; ZHANG, Y. ;YU, Q.; TAN , Y X.; ZHUANG, X. ; YUAN,Z. Effect of sodium hydroxide pretreatment on physicochemical changes and enzymatic hydrolysis of herbaceous and woody lignocelluloses. **Industrial Crops and Products**,V.145, p. 112145, 2020.

WEERACHANCHAI, P.; LEE, J. M. Recyclability of an ionic liquid for biomass pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 169 p. 336–343, 2014.

WOICIECHOWSKI, A. L.; NETO, C. J. D.; VANDENBERGHE, L. P. S.; NETO, D. P. C.; SYDNEY, A. C. N.; LETTI, L. A. J.; KARP, S. G.; TORRES, L. A Z.; SOCCOL, C.R. Lignocellulosic biomass: Acid and Alkaline pretreatment and their effects on biomass

recalcitrance-Conventional processing and recent advances. **Bioresource Technology**, v. 304, p. 122848,

ARTIGOS PUBLICADOS DA DISSERTAÇÃO

APÊNDICE A – Título: Optimization of Alkaline, Acidic, Ionic Liquid and Oxidative Pretreatments for Coconut Waste Conversion into Fermentable Sugars

APÊNDICE B – Título: Prediction of quality parameters of food residues using NIR spectroscopy and PLS models based on proximate analysis