

UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

HIDRÓLISE, COM ÁGUA SUBCRÍTICA E CO₂, DO AMIDO E CELULOSE PRESENTES NO RESÍDUO DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA DE GENGIBRE (*Zingiber officinale* Roscoe): PRODUÇÃO DE OLIGOSSACARÍDEOS

SILVÂNIA REGINA MENDES MORESCHI Mestre em Engenharia Química

Orientadora: Prof^a Dr^a MARIA ANGELA DE ALMEIDA MEIRELES

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Campinas, Abril de 2004.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

M816h	Moreschi, Silvânia Regina Mendes Hidrólise, com água subcrítica e CO ₂ , do amido e celulose presentes no resíduo de extração supercrítica de gengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe): produção de oligossacarídeos / Silvânia Regina Mendes Moreschi. – Campinas, SP: [s.n.], 2004.
	Orientador: Maria Angela de Almeida Meireles Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Engenharia de Alimentos
	1.Bagaço. 2.Gengibre. 3.Hidrólise. 4.Amido. 5.Fluidos supercríticos. I.Meireles, Maria Angela de Almeida. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Maria Angela de Almeida Meireles (orientadora) (DEA – FEA – UNICAMP)

Prof. Dr. Antônio José de Almeida Meirelles (membro) (DEA – FEA – UNICAMP)

Prof. Dr. João Alexandre F. Rocha Pereira (membro) (DESQ - FEQ - UNICAMP)

> Prof. Dr. Luiz Antônio Viotto (membro) (DEA – FEA – UNICAMP)

Prof. Dr. Silvio Roberto Andrietta (membro) (CPQBA – UNICAMP)

Prof. Dr. Carlos Eduardo Vaz Rossel (suplente) (Copersucar)

Prof. Dr. Francisco Maugeri Filho (suplente) (DEA/FEA/UNICAMP) "Coragem é a maior qualidade da liderança na minha opinião, não importa onde seja exercida. Geralmente isso implica em algum risco: principalmente em projetos novos. Coragem para começar uma coisa e para continuar caminhando."

(Walt Disney)

Dedico este trabalho ao meu marido Eddie e aos meus filhos, Vitor e Bianca, que me compreenderam, me apoiaram e me toleraram.

AGRADECIMENTOS

A Deus e ao meu anjo, que sempre me iluminaram nas horas mais difíceis.

À Prof^a Dr^a Maria Angela de Almeida Meireles (que sempre admirei) pela orientação deste trabalho visando o meu crescimento profissional.

À FAPESP, pelo apoio financeiro deste projeto de pesquisa (N ° 99/12868-6).

Aos membros da banca examinadora pelas valiosas sugestões e colaborações que contribuíram para o mérito deste trabalho.

À Mara Elga Medeiros Braga, grande amiga e companheira desta jornada.

Ao Ari (Ariovaldo Astini), técnico do LASEFI, pela amizade e colaboração durante a parte experimental deste trabalho.

A todos os colegas do LASEFI, pela colaboração e amizade durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao CERAT – Centro de Raízes e Amidos Tropicais – UNESP/ Botucatu , na pessoa da pesquisadora Dr^a Marney Pascoli Cereda, do químico Fábio Iachel da Silva e da técnica química Áurea da Silva, pelo treinamento recebido em análises laboratoriais.

Aos pesquisadores Dr. Antônio Aprígio da Silva Curvelo e Dr. Luis Henrique Ferreira, do Departamento de Físico-Química do Instituto de Química (IQSC) da USP-São Carlos, pela valiosa colaboração nos testes iniciais de hidrólise.

Às empresas Novozymes Latin America Ltda e Prozyn, pela doação de enzimas para análise quantitativa de amido.

Aos meus pais, Francisco e Alice, que me fizeram a pessoa que sou, me ajudando sempre de modo irrestrito e colaborando para o meu crescimento pessoal e profissional.

Aos meus irmãos e suas famílias, e ao meu avô Faustino, que me incentivaram e apoiaram.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para que este trabalho fosse concluído, meu muito obrigada!

ix

Índice Geral

Lista ut FigurasXv
Lista de Tabelasxix
Nomenclaturaxxiii
Resumoxxv
Abstractxxvii
Capítulo 1 - Introdução Geral1
1.1 - Introdução1
1.2 - Objetivo geral2
1.2.1 - Objetivos específicos2
Capítulo 2 - Revisão Bibliográfica
2.1 - Biomassa
2.1.1 - Processos de conversão de biomassa
2.1.1 - Processos de conversão de biomassa
2.1.1 - Processos de conversão de biomassa
2.1.1 - Processos de conversão de biomassa
2.1.1 - Processos de conversão de biomassa
2.1.1 - Processos de conversão de biomassa

2.5 - Gengibre
2.6 - Bagaço de cana19
2.7 - O Estado supercrítico
2.7.1 - Fluidos subcríticos e supercríticos21
2.7.2 - A Etapa de extração supercrítica (ESC) como um pré-tratamento para a
hidrólise22
2.7.3 - Reações em meio sub e supercrítico22
2.7.4 - Água subcrítica24
2.7.4.1 - Hidrólise com água sub e supercrítica25
Canítulo 3 - Materiais e Métodos 29
3.1 - Matéria-prima de hidrólise
 3.1 - Matéria-prima de hidrólise
3.1 - Matéria-prima de hidrólise. 29 3.2 - Outras matérias-primas de hidrólise. 29 3.3 - Testes preliminares de hidrólise. 31 3.3.1 - Testes de hidrólise em micro-reator. 31 3.4 - Procedimento experimental em reator semi- contínuo. 32 3.4.1 - Equipamento de hidrólise. 32
3.1 - Matéria-prima de hidrólise. 29 3.2 - Outras matérias-primas de hidrólise. 29 3.3 - Testes preliminares de hidrólise. 31 3.3.1 - Testes de hidrólise em micro-reator. 31 3.4 - Procedimento experimental em reator semi- contínuo. 32 3.4.1 - Equipamento de hidrólise. 32 3.4.1.1 - Limpeza do equipamento. 34
3.1 - Matéria-prima de hidrólise. 29 3.2 - Outras matérias-primas de hidrólise. 29 3.3 - Testes preliminares de hidrólise. 31 3.3.1 - Testes de hidrólise em micro-reator. 31 3.4 - Procedimento experimental em reator semi- contínuo. 32 3.4.1 - Equipamento de hidrólise. 32 3.4.1 - Limpeza do equipamento. 34 3.4.2 - Processo de hidrólise. 34

3.5 - Caracterização dos produtos e material residual
3.5.1 - Análises gerais
3.5.2 - Estudos cinéticos
3.5.2.1 - Dextrose equivalente dos produtos de reação
3.5.2.2 - Determinação da massa molecular
3.5.2.3 - Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)
3.6 - Planejamento experimental
3.7 - Procedimento de cálculos
3.7.1 - Balanço de massa do processo
3.7.2 - Rendimento40
3.7.3 - Grau de hidrólise40
3.7.4 - Análise estatística41
Capítulo 4 - Resultados e Discussões43
4.1 - Testes preliminares de hidrólise43
4.1.1 - Testes de hidrólise em micro-reator43
4.1.2 - Ensaios preliminares em reator semi-contínuo43
4.1.2.1 - Ordem de aquecimento/ pressurização do sistema de reação44
4.1.2.2 - Razão de bagaço de gengibre e água na alimentação do reator44
4.1.3 - Caracterização da cinética de reação45

4.1.3.1 - Exploração inicial da influência do tempo de reação nas variáveis
respostas do processo de hidrólise45
4.2 - Hidrólise de bagaço de gengibre em água subcrítica e CO ₂ 47
4.3 - Estudo da cinética de hidrólise53
4.3.1 - Caracterização dos produtos de reação60
4.4 - Hidrólise de outras matérias amiláceas-celulósicas
Capítulo 5 - Conclusões67
Capítulo 6 - Sugestões para Trabalhos Futuros69
Capítulo 7 - Referências Bibliográficas71
Anexo A - Artigo: Hydrolysis of Ginger Bagasse Starch in Subcritical Water and CO ₂
Anexo B - Testes de Hidrólise com Tempo de Reação Constante
Anexo C - Estudo Cinético de Hidrólise85
Anexo D - Hidrólise de Outros Materiais111
Anexo E - Curvas-padrões de Glicose113

Lista de Figuras

Figura 2.1 - Esquema de separação dos componentes da biomassa [Schuchardt et al,
2001]
Figura 2.2 - Partes estruturais da macromolécula de amido: (a) glicose (b) estrutura da
amilose (c) estrutura da amilopectina (d) molécula de amilopectina13
Figura 2.3 - Unidade glicosídica do amido14
Figura 2.4 Reacões do amido na presença de ácido [ReMiller, 1984]
rigura 2.4 - Keações do annuo na presença de acido [Bewiner, 1964]15
Figura 3.1 - Sistema autoclave/ micro-reator
Figura. 3.2 - Equipamento utilizado para reação de hidrólise Spe-ed SFE32
Eigune 2.2. Discomme agruemática de agruinemente Sue ad SEE
Figura 5.5 - Diagrama esquematico do equipamento Spe-ed SFE
Figura 3.4 - Diagrama esquemático do sistema de reação em equipamento Spe-ed
SFE
Figura 4.1 - Grau de hidrólise e rendimento em açúcares redutores na hidrólise de bagaço
de gengibre a 100 bar e 200 bar, a 140 °C e 180 °C, tempo de reação de 1 minuto e razão de
bagaço:água de 3:7
Figura 4.2 - Grau de hidrólise e rendimento em açúcares redutores obtidos na hidrólise do
bagaço de gengibre com água subcrítica e CO2, com tempo de reação de 15 minutos e razão
de bagaço: água de 3: 747
Figura 4.3 - Aspecto do resíduo de reação (a) e do produto de reação (b) da hidrólise do
bagaço de gengibre com água subcrítica e CO ₂ 49

Figura 4.4 - Superfície de resposta do grau de amido hidrolisado na reação de hidrólise do
bagaço de gengibre com água subcrítica e CO ₂ , com tempo de reação de 15 minutos e 30%
de bagaço na alimentação do reator
Figura 4.5 - Superfície de resposta do rendimento em açúcares redutores para a reação de
hidrólise do bagaço de gengibre com água subcrítica e CO2, com tempo de reação de 15
minutos e 30% de bagaço na alimentação do reator
$\Gamma'_{1} = 4 \left(\begin{array}{c} c \\ c \\ \end{array} \right) = 1 \left(\begin{array}{c} 1 \\ 1 \\ \end{array} \right) = 1 \left(\begin{array}{c} $
Figura 4.6 - Grau de Hidrolise do amido de bagaço de gengibre, $1/6 ^{\circ}C(\mathbf{A})$, 188 $^{\circ}C(\mathbf{E})$
200 °C (•)
Figura 4.7 - variação do pH dos produtos de reação. Na hidrólise do bagaço de gengibre.
176 °C (▲), 188 °C (■), 200 °C (●)
Figura 4.8 - Rendimento da hidrólise do bagaço de gengibre, 176 °C (▲), 188 °C (■), 200
°C (•)
Figura 4.9 - Cinética da hidrólise do amido de bagaço de gengibre com água subcrítica e
C_{0} : $\ln(1-X)$ vs tempo de reação a 150 har e (A) 176 °C 188 °C (=) e 200 °C (e) 59
CO_2 - in (1-X) vs tempo de reação a 150 bar $C(\mathbf{x})$ 170 °C, 188 °C (\mathbf{x}) e 200 °C (\mathbf{v})
Figura 4.10 - Parâmetros cinéticos da hidrólise do amido de bagaço de gengibre com água
subcrítica e CO ₂
Figura 4.11 - Estrutura química da rafinose
Figura C.1 - Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cinético
realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 1 minuto86
Eigura C.2. Cromatograma obtido por CLAE do produto do respoño do estudo sinático
rigura C.2 - Cromatograma obrido por CLAE do produto de reação do estudo cinenco
realizado a 188 °C, 150 dar com tempo de reação de 3 minutos
Figura C.3 - Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cinético
realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 5 minutos

realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 7 minutos	87
Figura C.5 - Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cir	nético
realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 9 minutos	88
Figura C.6 - Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cir	nético
realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 11 minutos	88
Figura C.7 - Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cir	nético
realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 15 minutos	89
Figura C.8 - Cromatograma dos padrões (CLAE)	89
Figura C.9 - Curvas-padrões de rafinose, sacarose, glicose, xilose e fr	utose
(CLAE)	90
Figura D.1 - (a) Gengibre (Zingiber officinale Roscoe) fresco processado,(b) Cúre	cuma
(Curcuma longa <i>L</i> .) fresca processada	.111
Figura D.2 - Curva de Rendimento Global de extrato de gengibre (Zingiber offic	cinale
Roscoe) a 250 bar, 35 °C e 1,5% de isopropanol (v/v) como co-solvente	112
Figura E.1 - Curvas-padrões de glicose utilizadas para a análise de açúcares redutores	pelo
método de Somogyi & Nelson	114

Figura C.4 - Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cinético

Lista de Tabelas

Tabela 2.1 - Características gerais de dois tipos de gengibre Brasileiro
Tabela 2.2 - Composição média do bagaço de cana 19
Tabela 3.1 - Identificação do bagaço de gengibre usado nos estudos de hidrólise
Tabela 3.2 - Características das colunas utilizadas para GPC para determinação da distribuição percentual da massa molecular dos produtos de reação das cinéticas a 150 bar e 176 °C, 188 °C e 200 °C
Tabela 3.3 - Massas moleculares dos padrões de dextrana utilizados na curva-padrão para determinação da distribuição percentual da massa molecular dos produtos de reação das cinéticas a 150 bar e 176 °C, 188 °C e 200 °C
Tabela 4.1 - Rendimento, teor de amido hidrolisado e perdas do processo para ordens distintas de aquecimento/ pressurização do sistema de reação e distintas razões de bagaço de gengibre; água na alimentação do reator na hidrólise do bagaço de gengibre a 100 bar
Tabela 4.2 - Grau de hidrólise e rendimento do processo de hidrólise do bagaço de gengibre em água subcrítica e CO_2 com tempo de reação de 15 minutos
Tabela 4.3 - Dextrose equivalente (%) dos produtos de reação da hidrólise do bagaço de gengibre KD_{31} a 150 bar e 176 °C, 188 °C e 200 °C61
Tabela 4.4 - Distribuição de massa molecular (Percentagem Cumulativa) dos produtos de reação a 150 bar e 176, 188 e 200 °C62
Tabela 4.5 - Caracterização dos produtos de reação por CLAE para a cinética 188°C, 150 bar

Tabela 4.6 - Teor de amido, fibras totais, açúcares redutores, açúcares totais e umidade de
diferentes matérias-primas de hidrólise
Tabela 4.7 - Grau de hidrólise e rendimento em açúcares redutores e em açúcares totais de
diferentes matérias-primas de reação a 200 °C, 150 bar e tempo de reação de 11
minutos
Tabela. B.1 - Experimentos de hidrólise: fatorial completo 2^2 com ponto central81
Tabela. B.2 - Pontos axiais
Tabela B.3 - Grau de hidrólise e rendimento do processo de hidrólise do bagaço de
gengibre em água subcrítica e CO ₂
Tabela B.4 - Valores críticos da variável grau de hidrólise (Hidrol)
Tabela B.5 - Análise de variância da variável grau de hidrólise (Hidrol)
Tabela B.6 - Valores críticos da variável resposta rendimento (y)
Tabela B.7 - Análise de variância da variável resposta rendimento (y)
Tabela B.8 - Valores críticos da variável resposta perdas do processo (Perdas)
Tabela B.9 - Análise de variância da variável resposta perdas do processo (Perdas)
Tabela C.1 - Grau de hidrólise e rendimento em açúcares redutores na hidrólise do amido
de bagaço de gengibre KD_{31} a 150 bar, 176 °C (\blacktriangle), 188 °C (\blacksquare), 200 °C (\bullet) com água
subcrítica e CO ₂ , e 30% de bagaço na alimentação do reator
Tabela C.2 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética 176
°C, 150 bar, tempo de reação de 1 minuto92
Tabela C.3 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética 176
°C, 150 bar, tempo de reação de 5 minutos

Tabela C.4 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética 176
°C, 150 bar, tempo de reação de 7 minutos94
Tabela C.5 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética 176
°C, 150 bar, tempo de reação de 9 minutos95
Tabela C.6 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética 176
°C, 150 bar, tempo de reação de 11 minutos96
Tabela C.7 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética 176
°C, 150 bar, tempo de reação de 15 minutos97
Tabela C.8 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética 188
°C, 150 bar, tempo de reação de 1 minuto
Tabela C.9 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética 188
°C, 150 bar, tempo de reação de 3 minutos
Tabela C.10 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética
188 °C, 150 bar, tempo de reação de 5 minutos
Tabela C.11 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética
188 °C, 150 bar, tempo de reação de 7 minutos
Tabela C.12 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética
188 °C, 150 bar, tempo de reação de 9 minutos
Tabela C.13 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética
188 °C, 150 bar, tempo de reação de 11 minutos103
Tabela C.14 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética
188 °C 150 bar tempo de reação de 15 minutos 104

Tabela C.15 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética
200 °C, 150 bar, tempo de reação de 1 minuto
Tabela C.16 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética
200 °C, 150 bar, tempo de reação de 5 minutos
Tabela C.17 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética
200 °C, 150 bar, tempo de reação de 7 minutos107
Tabela C.18 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética
200 °C, 150 bar, tempo de reação de 9 minutos108
Tabela C.19 - Distribuição de massas moleculares (GPC)- produto de reação da cinética
200 °C, 150 bar, tempo de reação de 11 minutos109
Tabela D.1 - Tamanho médio de partícula do gengibre e da cúrcuma frescos
processados111
Tabela F.1 - Horas trabalhadas em ensaios de hidrólise
Tabela F.2 - Horas trabalhadas em análises químicas de matérias-primas de hidrólise,
produtos e resíduos de reação115

NOMENCLATURA

```
P: pressão, bar
```

- T: temperatura,°C, K
- M: massa, kg
- t: tempo, seg, min
- X: grau de hidrólise, m/m, %
- y: rendimento em açúcares redutores, m/m, %
- R²: coeficiente de correlação (linear)
- k_H: constante de taxa de reação (para a hidrólise do amido), min⁻¹
- A: fator pré-exponencial, min⁻¹
- $E_a\!\!:$ energia de ativação, $kJ\!\times\!mol^{\text{-}1}$
- R: constante dos gases ideais
- Da: Daltons
- kDa: quiloDaltons
- AR: açúcares redutores
- Am: amido
- ST: sólidos totais
- pH: potencial hidrogênico
- AsC: água subcrítica
- ASC: água supercrítica
- ESC: extração supercrítica
- FDA: Food and Drugs Administration

DE: dextrose equivalente

GPC: cromatografia de permeação em gel

CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência

TESE DE DOUTORADO

AUTOR: Silvânia Regina Mendes Moreschi

TÍTULO: Hidrólise com Água Subcrítica e CO₂, de Amido e Celulose Presentes no Resíduo de Extração Supercrítica de Gengibre (*Zingiber Officinale* Roscoe): Produção de Oligossacarídeos.

ORIENTADORA: Dr^a M. Angela A. Meireles - LASEFI/DEA/FEA/UNICAMP

RESUMO

A celulose e amido presentes em resíduos de plantas aromáticas, que já sofreram extração de seus óleos essenciais através de CO₂ supercrítico, foram hidrolisados rapidamente com água subcrítica (AsC) e CO₂, a fim de se obter oligossacarídeos. Celulose e amido não são solúveis em CO₂ supercrítico, assim, permanecem no resíduo sólido após o processo de extração supercrítica (ESC). A etapa de ESC atua como um pré-tratamento para a hidrólise porque a pressão age sobre a matriz sólida, relaxando a estrutura do grânulo de amido, resultando num aumento da taxa de hidrólise. O gengibre (Zingiber officinalle Roscoe) contém aproximadamente 50% de amido, e a decomposição do amido de bagaço de ESC de gengibre foi efetuada num reator semi-contínuo, operando numa faixa de temperatura entre 132 - 200°C e pressões entre 80 – 220 bar. A alimentação do reator constou de uma mistura de bagaço de gengibre e água (3:7). O CO₂ foi utilizado para a pressurização do sistema. Para arrastar os produtos formados do reator foi utilizada uma vazão de CO_2 de 7,48 × 10⁻⁵ kg s⁻¹. O rendimento da hidrólise foi avaliado em relação ao teor de açúcares redutores formados. Os ensaios de hidrólise foram realizados num tempo de reação constante para procurar as condições de temperatura e pressão que maximizassem o grau de hidrólise e o

rendimento. Os resultados foram analisados pela metodologia de superfície de respostas. Os testes de cinética de hidrólise foram realizados a 150 bar e a 176, 188 e 200 °C, mantendose constantes a razão de bagaço: água na alimentação e a vazão de CO₂, e com os seguintes tempos de reação: 1, 5, 7, 9, 11 e 15 minutos. O maior grau de hidrólise (97,1% a 15 minutos de reação) e o maior rendimento em açúcares redutores (18,1% a 11 minutos de reação) foram estabelecidos para 200 °C. Diferentes misturas de oligossacarídeos com diferentes distribuições de massas moleculares foram obtidas, dependendo da temperatura e do tempo de reação. A hidrólise do bagaço de gengibre foi tratada como uma reação heterogênea com uma cinética global de primeira ordem em relação à concentração de amido, a qual resultou numa energia de ativação de 185,1 kJ mol⁻¹ e um fator préexponencial de 5,8 × 10¹⁷s⁻¹. Ensaios de hidrólise de gengibre e cúrcuma (*Curcuma longa* Linneu) frescos, gengibre seco, cúrcuma seca e bagaço de gengibre (150 bar, 200 °C e 11 minutos).

PALAVRAS-CHAVES: bagaço de gengibre, hidrólise, amido, água subcrítica, fluidos supercríticos, bagaço-de-cana, cúrcuma

DOCTORATE THESIS

AUTHOR: Silvânia Regina Mendes Moreschi

TITLE: Hidrolysis by using subcritical water and CO₂, of the cellulose and starch present in the bagasse of the supercritical extraction of the ginger (*Zingiber Officinale* Roscoe): oligossacharides production.

MAJOR PROFESSOR: Dr^a M. Angela A. Meireles - LASEFI/DEA/FEA/UNICAMP

ABSTRACT

Cellulose and starch contained in aromatic-plant residues, which had been subjected to supercritical CO₂ extraction, were hydrolyzed with subcritical water and CO₂ to obtain oligosacharides. Cellulose and starch are not soluble in supercritical CO₂; therefore, they remained in the solid matrix after the supercritical extraction. The extraction step acted as a pre-treatment step for hydrolysis because the pressure affected the solid matrix by relaxing the starch granule resulting, thus, increasing the rate of hydrolysis. Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) bagasse containing about 50% of starch was hydrolyzed in a semicontinuo reactor in the temperature range of 132 - 200°C and pressure range of 80 – 220 bar. The reactor was filled with a mixture of ginger bagasse and water (3:7). The CO₂ was used to pressurize the system. To withdraw the products from the reactor a CO₂ flow rate of 7.48 × 10⁻⁵ kg s⁻¹ was used. The hydrolysis assays were done for a constant reaction time of 15 min to search for the condition of temperature and pressure that maximized the hydrolysis degree and the yield. The results were analyzed by the surface response

methodology. The hydrolysis kinetics tests were performed at 150 bar and at 176, 188, and 200 °C. The kinetics tests were done keeping constant the ratio between ginger bagasse and water, as well as the CO₂ flow rate; the following reaction times were evalueted: 1, 5, 7, 9, 11 and 15 min. The highest hydrolysis degree (97.1% at 15 min) and the highest yield (18.1% at 11 min) were stablished for 200 °C. Different oligosaccharide mixtures with different molecular mass distributions were obtained, depending on the temperature and on the reaction time. The ginger bagasse hydrolysis was treated as a heterogeneous reaction with a first-order global chemical kinetic, with respect to the starch concentration; resulting in an activation energy of 185.1 kJ mol⁻¹ and a preexponential factor of $5.8 \times 10^{17} \text{s}^{-1}$. Hydrolysis of fresh ginger and turmeric (*Curcuma longa* Linneu), dried ginger, dried turmeric, and sugar-cane bagasse were performed at the best conditions established for ginger bagasse (150 bar, 200 °C and 11 min).

KEYWORDS: ginger bagasse, hydrolysis, starch, subcritical water, supercritical fluids, sugar-cane bagasse, turmeric

1. Introdução Geral

1.1. Introdução

O interesse por processos de transformação de biomassa vem aumentando nas últimas décadas. Este interesse se deve à necessidade de substituição de fontes de energia não renováveis e agregar valor aos resíduos de produção, conseqüentemente, melhorando o retorno econômico e/ ou a viabilidade de muitos processos de transformação.

O uso da água subcrítica como solvente vem de encontro aos interesses por processos limpos de transformação. Devido às suas propriedades, a água subcrítica vem sendo usada para um grande número de aplicações como reações de oxidação, hidrólise/ pirólise e extrações de substâncias hidrofóbicas, tais como aromas, óleos essenciais, poluentes do solo e hidrocarbonetos de petróleo.

A hidrólise com água subcrítica é rápida (tempo de reação variando de alguns segundos a poucos minutos) e seletiva, de acordo com a variação de temperatura e pressão do processo. A hidrólise de celulose e amido com água subcrítica resulta em pentoses e hexoses de variados graus de polimerização, com inúmeros usos nas indústrias de alimentos, farmacêutica, de cosméticos, produção de etanol, entre outras, incluindo matérias-primas de síntese de derivados de petróleo. Outros produtos de hidrólise como ácidos, furfural e hidroximetilfurfural também colaboram para o aumento da viabilidade econômica do processo.

O uso de resíduos de extração supercrítica aumenta o rendimento da hidrólise uma vez que a etapa de extração atua como um pré-tratamento através da relaxação da estrutura amilácia-celulósica, facilitando a hidrólise. O hidrolisado do bagaço de extração supercrítica do gengibre pode conter propriedades características especiais de sabor e aroma.

1.2. Objetivo Geral

O objetivo geral é estudar a hidrólise em meio subcrítico, na presença de CO_2 , de resíduos amiláceo/ celulósicos de extração supercrítica, viabilizando a obtenção de produtos de alto valor agregado.

1.2.1. Objetivos Específicos

- Estudar o emprego de água subcrítica para a hidrólise do amido presente no bagaço de gengibre (resíduo de extração supercrítica).
- Caracterizar o perfil de composição dos produtos e resíduos de reação.
- Analisar o rendimento do processo de hidrólise.
- Caracterizar a cinética de hidrólise obtendo os parâmetros cinéticos globais do processo.
- Estudar a hidrólise de outros materiais amiláceos-celulósicos na melhor condição encontrada nos estudos cinéticos.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Biomassa

A biomassa é a quarta maior fonte de energia no mundo, fornecendo em torno de 14% da energia primária [Küçuk e Demirbas, 1997]. Com o crescente aumento da atividade industrial, muitas fontes de energia têm sido substituídas por biomassa, visando encorajar métodos menos poluentes de produção de energia. Para este fim muitos esforços têm sido feitos na melhoria da tecnologia de aproveitamento desta biomassa, tornando a produção e a conversão da biomassa mais eficientes, indo além do uso da biomassa para a queima direta para a produção de energia até a fabricação de compostos importantes: as primeiras fibras termoplásticas sintéticas foram feitas de derivados da celulose; o acetaldeído, o maior intermediário petroquímico, pode ser feito do ácido láctico e os sais do ácido levulínico têm sido propostos para substituir o etilenoglicol como fluido refrigerante [Demirbas, 2001].

2.1.1. Processos de Conversão de Biomassa

As tecnologias de conversão da biomassa incluem processos de combustão direta, bioquímicos, agroquímicos e termoquímicos. A combustão é largamente usada para transformar biomassa em energias térmica e elétrica, sendo o principal processo adotado para a utilização da energia da biomassa, e pode ter sua eficiência comparada àqueles sistemas de produção de energia por combustíveis fósseis, porém oferece um alto custo devido ao conteúdo de umidade presente. Entretanto, o uso combinado da biomassa em sistema de produção de energias térmica e elétrica tem uma melhoria econômica significante.

Os processos bioquímicos envolvem digestão anaeróbica para a produção de misturas combustíveis de metano e dióxido de carbono, que quando geradas de resíduos animais e vegetais, é chamado biogás, e quando geradas de resíduos sólidos municipais é chamado

gás de aterro. Outro importante processo bioquímico é a fermentação alcoólica. O etanol pode ser produzido de biomassa contendo açúcares, amido ou celulose.

Os processos agroquímicos compreendem o uso direto dos resíduos de produção de óleo vegetal, que possuem altas proporções de óleo, para a substituição do diesel (biodiesel) ou como um óleo de aquecimento. O custo da matéria-prima é o mais importante fator no custo geral da produção do biodiesel e seus benefícios incluem a redução da emissão de gases poluentes e de material particulado e sua alta biodegradabilidade.

Os processos termoquímicos podem ser divididos em pirólise, gaseificação, extração supercrítica, liquefação (realizada a baixa temperatura, alta pressão e na presença de catalisador), e por último os processos de hidrotermólises, que convertem biomassa com água a altas pressões, e que estão em fase inicial de estudos. A conversão de biomassa por pirólise apresenta vantagens econômicas e ambientais sobre os combustíveis fósseis, porém estes, muitas vezes, têm proteção governamental. A hidrólise converte materiais celulósicos e amiláceos em açúcares e subprodutos para uso na indústria química, porém na prática isto é dificultado pela competição com petroquímicos mais baratos. O uso de fluidos supercríticos para a conversão da biomassa tem sido incrementado nos últimos anos através de diferentes mecanismos de transformação em produtos primários e sua posterior conversão numa ampla variedade de produtos finais [Demirbas, 2001].

Desde a última década os fluidos supercríticos têm sido largamente explorados na indústria e na ciência como solventes e meio de reação. Devido às suas propriedades físicas e químicas que podem variar entre os extremos das propriedades de um gás e de um líquido são empregados nos mais diferentes campos [Krammer e Vogel, 2000]. Um dos mais promissores métodos de transformação de biomassa é o tratamento hidrotérmico, também conhecido como hidrotermólise, que emprega água sub e supercrítica como meio de reação. Este processo oferece altas taxas de conversão em curtos intervalos de tempo quando comparado com processos de biodegradação baseado em microorganismos. Com respeito à distribuição dos produtos, oferecem altas seletividades através do ajuste da temperatura e da pressão, pois as grandes mudanças nos valores de densidade, produto iônico e constante dielétrica da água oferecem diferentes caminhos de decomposição. Em tais aplicações, a

biomassa oferece um potencial de quase completa reciclagem de todos os seus componentes [Albrecht e Brunner, 2001].

2.2. Hidrólise de polímeros derivados de plantas

A maioria dos trabalhos de reação em água sub e supercrítica tem sido direcionada para materiais como a celulose, hemicelulose, lignina e amido, principais constituintes do material vegetal e os mais abundantes polímeros no mundo [Albrecht e Brunner, 2001]. A hidrólise favorece a quebra das ligações éter – éster, pela adição de uma molécula de água para cada ligação quebrada. Macromoléculas de carboidratos de plantas são constituídas, principalmente por seus componentes monoméricos pela formação de pontes de éteres. Os grupos acetil na hemicelulose são conectados às pentoses por ligações éster: para o caso da lignina, além das ligações éter, as ligações C–C também ocorrem entre as unidades de fenilpropano. Aproximadamente metade de todas as ligações do monômero fenilpropano, na lignina é ligação éter, formando estruturas macromoleculares estáveis que podem também ser degradadas por hidrólise [Bobleter, 1994]. O processo de extração da lignina é efetivo quando a temperatura é maior que a temperatura de seu ponto de transição vítrea, próximo a 175°C [Rubio *et al*, 1998].

A hidrólise pode ser realizada na presença de catalisadores ácidos (hidrólise ácida) ou alcalinos (hidrólise alcalina), porém estes processos envolvem os custos de recuperação destes catalisadores e problemas de corrosão, e para o caso da celulose, o tratamento alcalino conduz à perda da hemicelulose, que não é interessante. O maior problema da hidrólise ácida é que a decomposição de açúcares monoméricos produzidos durante a reação ocorre simultaneamente com a hidrólise de polissacarídeos, portanto é necessário escolher as melhores condições de reação, tipo de reator e modo de operação que minimizem este processo [Kim *et al*, 2000]. A hidrólise enzimática de biomassa pode ser seletiva, porém para o caso de materiais celulósicos o custo ainda é relativamente alto devido à complexidade das estruturas vegetais que requerem diferentes enzimas [Sun e Cheng, 2002], além de pré-tratamento para remoção de ligninas. Os polissacarídeos

estruturais são mais difíceis de degradar que os polissacarídeos de estoque como o amido. A Figura 2.1 mostra um esquema simplificado da separação dos componentes da biomassa.



Figura 2.1 - Esquema de separação dos componentes da biomassa [Schuchardt et al, 2001].

A hidrólise sem catalisadores é denominada hidrotermólise ou degradação hidrotérmica. O mecanismo de hidrólise é complicado devido à formação de produtos de degradação da glicose, que consiste basicamente em dois principais grupos de reações. O primeiro grupo consiste de reações reversíveis e rápidas, onde o equilíbrio pode ser alcançado em poucos segundos (2 - 8 s) e degradam em torno de 20% de glicose. O segundo grupo representa reações mais lentas que produzem hidroximetilfurfural (até 100 seg). A hidrólise da biomassa produz, além de açúcares, produtos como furfural e hidroximetilfurfural como produtos de degradação, sendo que na produção de etanol por fermentação de solução de açúcares, devem ser extraídos da solução com tolueno ou éter, pois são tóxicos aos microorganismos [Küçuk, e Demirbas, 1997]. A hidrotermólise ou autohidrólise acontece sob o efeito catalisador do íon hidrônio, sendo que este é inicialmente fornecido pela autoionização da água, e depois pelos ácidos gerados pela reação, fazendo com que o pH do meio reacional esteja entre 3-4 [Garrote *et al*, 2001].

Em comparação com a hidrólise ácida, a autohidrólise mostra as seguintes vantagens [Garrote *et al*, 2001]:

- Os problemas de corrosão são minimizados, pois não acontece a adição de ácidos minerais
- Dispensa a neutralização do hidrolisado
- As condições do meio reacional oferecem excelente seletividade com respeito à degradação da celulose
- Concentrações limitadas de produtos de degradação de açúcares são formadas
- Os produtos de reação são úteis para uma variedade de propósitos
- A autohidrólise pode melhorar a susceptibilidade dos resíduos sólidos para processos posteriores como os enzimáticos.

2.3. Celulose

A celulose é polímero mais abundante do mundo. É formada por longas cadeias lineares de moléculas de glicose que são ligadas na forma de unidades de D-anidroglucopiranose com pontes ésteres $(1 \rightarrow 4)$ - α -D-glicosídicas. A porção de celulose insolúvel em base forte (ex: NaOH 18%) é chamada de alfa-celulose e a porção parcialmente precipitada em condições neutras é dita beta-celulose. A porção restante dissolvida é a gama-celulose [Bobleter, 1994]. À soma da celulose com a hemicelulose chama-se holocelulose. A hidrólise da celulose produz a glicose, que por fermentação produz o etanol, que então fornece etileno, buteno (dimerização do etileno), propileno (metátese de buteno com etileno), butadieno (via acetaldeído) e ácido acrílico (via ácido láctico). A hidrólise da glicose com ácidos diluídos leva ainda ao hidroximetilfurfural, que pode ser transformado

em ácido levulínico (interessante insumo para poliésteres) e ácido fórmico [Schuchardt *et al*, 2001].

A hemicelulose, é similar à celulose, porém é constituída de unidades de pentoses (xilanas) ou unidades alternadas de manoses e glicoses ou unidades de galactoses, porém o diferencial é que todas as hemiceluloses possuem cadeias laterais constituídas de ácido acético, pentoses, ácidos hexurônicos e deoxihexoses (\alpha-L-raminose, \alpha-L-fucose) que são responsáveis pela solubilidade da hemicelulose em água e/ou em álcalis. Esta solubilidade somente ocorre se a hemicelulose estiver isolada. Na planta, as hemiceluloses estão na maioria, conectadas às ligninas, através de ligações covalentes, e assim fixadas à estrutura fibrosa. Para o isolamento da hemicelulose, é necessário quebrar as ligações lignina polissacarídeo. A baixas temperaturas isso é feito com soluções alcalinas, porém apresenta rendimentos insatisfatórios. Altos rendimentos podem ser obtidos com a deslignificação antes do tratamento alcalino. As pentoses obtidas da pré-hidrólise da hemicelulose (em condições suaves) podem ser fermentadas para a obtenção de etanol. Quando separadas por explosão a vapor (tratamento com vapor superaquecido e despressurização rápida), obtémse furfural como produto principal, que forma resinas com fenol ou uréia, ou pode ser hidrolisado para ácido maleico. Através da hidrogenação catalítica obtém-se o xilitol (umectante, adocante, plastificante, aditivo de alimentos) a partir da xilose; manitol (adoçante, plastificante, secante) a partir da manose, e um grande número de outros produtos [Schuchardt et al, 2001].

A lignina, ao contrário da celulose e da hemicelulose, possui uma estrutura aromática que forma uma rede macromolecular tridimensional [Bobleter, 1994], e é mais hidrofóbica que a celulose e a hemicelulose. É o mais abundante composto fenólico na natureza e serve como um ligante entre as fibras da madeira dando rigidez e força à estrutura, sendo geralmente conhecida como "plástico biológico". Pode ser transformada em óleos com características semelhantes ao petróleo através de hidrogenólise [Costa, 1989], em fenol e ácido acético, por pirólise [Greundenberg, 1941 citado por Schuchardt *et al*, 2001]. Processos oxidativos também fornecem fenol, vanilina e lignina oxidada [Gonçalves, 1995]. Ligninas podem ser utilizadas com vantagens na produção de resinas fenol-

Capítulo 2

formaldeído [Benar, 1996], de gás de síntese (por gaseificação com oxigênio), que é essencial na produção de metanol, composto importante para a produção de uma grande variedade de produtos químicos, como o etileno, propileno e álcoois superiores, através de sua passagem por zeólitas ácidas apropriadas [Maxwell e Stork, 1991 citados por Schuchardt *et al*, 2001], além do óxido de etileno e o etilenoglicol, que são produzidos a partir do etileno.

A celubiose, molécula constituída de duas unidades de glicose, é considerada o composto modelo para as unidades de repetição na celulose, e assim um modelo para a hidrólise da celulose [Bobleter, 1994]:

Celubiose
$$\xrightarrow{k_1}$$
 2 Glicose (2.1)
H₂O

Muitos estudos e discussões vêm sendo realizados para se avaliar o quanto a hidrotermólise de carboidratos macromoleculares diferem da degradação ácida ou alcalina. Respostas mais convincentes têm sido obtidas quando os experimentos são realizados levando-se em conta o modelo da celubiose em solução homogênea, evitando-se assim, problemas associados com procedimentos de reações heterogêneas, como é o caso da celulose. Usando-se a celubiose sem a adição de ácidos ou álcalis, o processo acontece numa faixa muito sensível ao pH entre 3 e 7. Nesta região, pequenas formação de ácidos alteram o pH fortemente. Tanto na hidrólise alcalina como na hidrotermólise ocorre a formação de ácidos orgânicos como ácido acético e ácido fórmico. O pH cai durante a reação, da neutralidade ou algum valor próximo para valores em torno de 3. Com a variação do pH temos uma influência na variação da constante de taxa de reação, que poderia mudar durante a reação. Porém, na hidrotermólise da celubiose isso não ocorre. Uma explicação para este comportamento cinético da quebra das ligações éter da celubiose é que as ligações de pontes de hidrogênio da água na celulose são mais fortes em altas temperaturas que a influência do pH nesta região.

Outro aspecto é que na hidrotermólise da celubiose o máximo de glicose formado é de aproximadamente 60%, isto significa que a reação da equação (2.1) pode ser refinada em [Bobleter, 1994]:



Onde M_2 é um intermediário. Muitos aspectos desta equação sugerem que a hidrotermólise da celubiose tem uma certa relação com as hidrólises ácidas e alcalinas no que diz respeito à distribuição de produtos, que pode ser baseada nos seguintes fatos:

 (a) Lorry e Bruyn – O rearranjo entre a glicose e a frutose (Rearranjo Alberta van Ekenstein) ocorrem extensivamente no tratamento alcalino e na hidrotermólise, mas menos em meio ácido.

(b) Os produtos de degradação, hidroximetilfurfural e furfural, são majoritários nas reações hidrotérmica e ácida, porém praticamente ausentes na hidrólise alcalina.

Resultados de experimentos hidrotérmicos mostraram que a 240°C, a estabilidade da celulose é aproximadamente 3 vezes maior do que a da glicose, e esta aproximadamente 10 vezes mais estável que a celubiose [Bobleter, 1994].

A hidrólise da celulose é uma reação heterogênea [Bobleter, 1994]:

Celulose $\xrightarrow{k_1}$ Glicose $\xrightarrow{k_2}$ Produtos de degradação (2.3)

Sob condições hidrotérmicas, um acúmulo de produtos ácidos de degradação na fase sólida da celulose pode ocorrer, porém como para o caso da celubiose, a celulose apresentou uma constante de reação k_1 invariável durante o tratamento com água pura.

Sabe-se que geralmente as hemiceluloses são menos resistentes a hidrólise que a celulose. Entretanto, o comportamento cinético da reação ainda não é completamente entendido. A hidrotermólise da lignina exige elevadas temperaturas devido à sua estabilidade térmica. A degradação da lignina contida na matriz vegetal é mais rápida do que a de ligninas préisoladas (formam um forte entrelaçamento) e pode ser alcançada em temperaturas em torno de 200 °C. O grau de polimerização da celulose decresce com o aumento do tempo de reação e com o aumento da temperatura. [Bobleter, 1994].

A hemicelulose é formada em sua maioria por monômeros de xilose, enquanto a celulose é quase inteiramente um polímero de glicose. As pentoses produzem furfural, que é usado para a fabricação de nylon 6,6, (usado na indústria de carpetes) e como agente oxigenador na indústria de combustíveis. As hexoses produzem o hidroximetilfurfural por hidrólise, sendo que a formação de hidroximetilfurfural da D-frutose é mais rápida e apresenta maior rendimento do que da D-glicose [Nelson e Theander, 1988]; e produtos importantes como o etanol e CO₂ por fermentação, além de outros compostos. A lignina residual possui alto valor energético, o que a qualifica como fonte de energia. Uma análise de viabilidade econômica do uso de materiais lignocelulósicos mostrou que a produção de etanol sozinho não é viável, entretanto a co-produção de furfural viabiliza o uso. Portanto, estudos de aproveitamento da biomassa são muito importantes no sentido de desenvolver a refinaria da biomassa, que combinaria produtos dependendo do mercado, preço e outros fatores [Kaylen *et al*, 2000].

2.4. Amido

O amido é a mais abundante reserva de carboidratos das plantas superiores, e é composto por dois polissacarídeos: amilose e amilopectina. A maioria dos amidos consiste de quase 75% de amilopectina semicristalina e 25% de amilose amorfa. A amilose é um polímero linear composto de várias centenas de unidades de glicose unidas através de ligações α -D-(1 \rightarrow 4). A amilopectina é um polímero ramificado contendo várias centenas de milhares a vários milhões de unidades de D-glicosil unidas por ligações α -D-(1 \rightarrow 4) e α -D-(1 \rightarrow 6). A hidrólise ácida do amido ocorre randomicamente e inicialmente produz fragmentos lineares e ramificados até a formação de dextrinas¹. A reação se torna mais rápida conforme a temperatura de reação é aumentada [Whistler, 1999]. A hidrólise ácida do amido produz Dglicose assim como produtos de degradação da D-glicose: 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), ácido levulínico, e ácido fórmico, sendo que os dois últimos são obtidos do 5-HMF. Apesar da hidrólise de malto-oligossacarídeos não ser amplamente estudada, alguns estudos sugerem que a taxa de hidrólise esteja mais relacionada com a solubilidade do que com a composição química [Whistler *et al*, 1984]. A taxa de hidrólise do amido depende:

- do efeito do ácido na ruptura do grânulo
- da hidrólise de cada componente do amido (amilose e amilopectina), que varia com a natureza do amido
- da hidrólise do polissacarídeo em si, conforme a quantidade e distribuição física das estruturas de amilopectina e amilose [Whistler *et al*, 1984].

¹ O termo dextrina é amplo, podendo significar qualquer produto de degradação do amido obtido tanto química quanto enzimaticamente. Na prática a palavra "dextrina" é reservada para produtos resultantes da piroconversão (tratamento do amido acidificado com calor) do amido [Fleche, 1985].

A Figura 2.2 mostra as estruturas constituintes do amido.



Figura 2.2 - Partes estruturais da macromolécula de amido: (a) glicose (b) estrutura da amilose (c) estrutura da amilopectina (d) molécula de amilopectina.

A hidrólise ácida para a produção de glicose, tem sido substituída recentemente pelo tratamento enzimático com três ou quatro diferentes enzimas. A completa conversão em xarope de glicose requer a liquefação e cadeias curtas de dextrinas solúveis, o ajuste do pH de 4,5 (natural do amido) para 6, pelo uso de NaOH. A enzima alfa-amilase age a 95 - 100 °C por 90 minutos. Uma temperatura acima de 100 °C é preferida para se assegurar da remoção do complexo lipídeo-amido. Também Ca²⁺ necessita ser adicionado para que a enzima tenha atividade [Maarel *et al*, 2002].
Podemos considerar a fórmula do amido como $(C_6H_{10}O_5)_n$ que pode também ser escrita como $[C_6H_7O_2(OH)_3]_n$ ou $[C_6H_7(OH)_3O_2]_n$, sendo que a unidade glicosídica que compõe a macromolécula do amido é mostrada na Figura 2.3 [Fleche, 1985]:



Figura 2.3 - Unidade glicosídica do amido.

A química do amido baseia-se nos grupos hidroxilas (para reações de substituição) e nas ligações glicosídicas (C–O–C) (para as quebras de cadeia). Porém num meio ácido a reação favorecida é a hidrólise das ligações α (1, 4) e assim, sendo o grau de substituição baixo, a reação é considerada ser de primeira ordem. Durante a formação de dextrinas dois tipos de reações ocorrem:

(i) a hidrólise das ligações α (1, 4) e

(ii) repolimerização, que se inicia quando o conteúdo de água decresce, e pode ser subdividida em dois subgrupos, reversão e transglucosidação, dependendo das condições de operação.

Na presença de água residual, ocorre a reversão, que é a reação entre um grupo aldeído e a hidroxila na posição C_6 , C_3 ou C_2 . Este processo faz a eliminação de uma molécula de água. Portanto, a reversão gera água, que pode iniciar subseqüente cisão hidrolítica com a geração de açúcares redutores Se a taxa de reversão for maior que a taxa de hidrólise, haverá um consumo de funções redutoras e a redução da quantidade de açúcares redutores formados durante a primeira etapa. A reação de transglucosidação consiste da quebra das ligações (C–O–C) e da reassociação de uma unidade de glicose no carbono aldeídico liderado. Esta reação não gera água, conseqüentemente nenhum novo açúcar redutor aparece. A hidrólise do amido foi diagramada por BeMiller, (1984) como:



Ácido Levulínico e Ácido Fórmico

Figura 2.4 - Reações do amido na presença de ácido [BeMiller, 1984].

Como indicado, a recombinação da D-glicose é um equilíbrio e, portanto dependente da concentração da D-glicose. É óbvio então que o uso de altas concentrações de amido resulta em reduzidos rendimentos de dextrose. A hidrólise ácida do amido resultaram 89,6% de dextrose e 10,4% de produtos de reversão [BeMiller, 1984]. Porém, a complexidade destas reações faz o estudo desta estrutura muito difícil [Fleche, 1985]. A decomposição ácido catalizada da glicose é conhecida ser de primeira ordem [Mckibbins, 1962 citado por Thompson, 1979].

2.4.1. Maltodextrinas

Maltodextrinas são hidrolisados parciais do amido, que têm tomado importância comercial desde o início dos anos 60. Estes hidrolisados são comumente caracterizados por seus graus de hidrólise, expressos em termos de dextrose equivalente (DE), que é a

percentagem de açúcares redutores calculados como dextrose em base seca [Alexander, 1992 citado por Marchal *et al*, 1999]. A FDA (United States Food and Drugs Administration - 21 CFR paragraph 184.144.4) define maltodextrinas como um polímero sacarídeo nutritivo, não-doce, que consiste de unidades de D-glicose ligadas primariamente através de ligações α (1 \rightarrow 4) com DE menor que 20. São produzidas com uma média de grau de polimerização, consistindo de uma ampla distribuição de sacarídeos lineares e ramificados (contendo ligações α (1 \rightarrow 6)). DE de um produto de hidrólise é a sua força redutora como uma percentagem da força redutora da dextrose pura (D-Glicose), e é inversamente proporcional à massa molecular médio. Produtos com baixo valor de DE possuem grandes quantidades de cadeias lineares ou fragmentos de cadeias ramificadas, o que permite a formação de fortes géis [Whistler, 1999].

Cabe ressaltar que, em geral a doçura para hidrolisados de amido está relacionada com o comprimento da cadeia do oligossacarídeo e que, geralmente, a doçura de oligossacarídeos individuais (em base mássica) decresce com o aumento do seu grau de polimerização (DP). Oligossacarídeos com DP acima de 7, possuem pequena ou nenhuma doçura. A doçura da solução aumenta com o aumento da concentração de sólidos.

As maltodextrinas possuem um grande leque de aplicações como agentes espessantes, texturizantes, coadjuvante em misturas de pós secos, substitutos de gorduras, imitações de queijos, molhos, produção de filmes, agente controlador de congelamento, prevenção de cristalização e para suprimento de valor nutricional. Apesar de serem caracterizadas pela DE, este parâmetro não é adequado para predizer a performance da maltodextrina nestas aplicações, e várias propriedades físicas e biológicas são requeridas. Maltodextrinas com o mesmo DE podem ter diferentes propriedades em vários tipos de aplicações que refletem diferenças em suas composições moleculares [Marchal *et al*, 1999]. Estas propriedades envolvem higroscopicidade, fermentabilidade em produtos alimentícios, viscosidade, doçura, estabilidade, gelatinização, osmolalidade² e taxa de absorção por humanos.

 $^{^2}$ A osmolalidade de uma solução é igual a quantidade de moles dissolvidos por quilo de água.

Como importantes propriedades funcionais, as maltodextrinas fornecem energia gradualmente devido ao mecanismo enzimático que as desmembram no intestino até sua forma mais simples (glicose), evitando assim, picos glicêmicos, além de ser ótimo precursor para a síntese de glicogênio muscular. Por ser pouco doce, permite a ingestão em maiores quantidades sem deixar sabor desagradável na boca. Por estas propriedades têm sido amplamente utilizadas na produção de bebidas energéticas para desportistas, que contendo cadeias curtas de oligossacarídeos com DP entre 3-6 são rapidamente absorvidas, repondo a água e os eletrólitos perdidos por perspiração e conservando a molalidade em níveis moderados prevenindo assim a perda de fluidos e possíveis efeitos colaterais como diarréia e cólicas. [Storey e Zumbe, 1995]. Também são utilizadas em bebidas líquidas com limitada solubilidade, onde maltodextrinas com diferentes DP balanceados podem oferecer baixa doçura, viscosidade e estabilidade; e como fluidos de alimentação enteral e parenteral, onde através do uso de maltodextrinas com DP entre 10 e 20 podem ser usados [Alexander, 1992 citado por Marchal *et al*, 1999].

2.4.2. Oligossacarídeos

A combinação glicosídica de 2 a 10 unidades de monossacarídeos é chamada de oligossacarídeos. Os oligossacarídeos podem ser classificados em relação a vários critérios, incluindo o tipo de grupo funcional, o número de resíduos monoméricos e os tipos de resíduos monoméricos no composto. A subdivisão em oligossacarídeos redutores e não-redutores é baseado na presença ou ausência do grupo hidroxila hemiacetal livre no composto. Um oligossacarídeo redutor tem um grupo hemiacetal livre e, portanto reage com o cobre alcalino, exibe mutarrotação, formando glicosídeos e osazonas de maneira análoga aos monossacarídeos. Os oligossacarídeos mais abundantes na natureza são: sacarose, lactose, maltose, α , α trealose, rafinose e estaquiose, portanto são feitos de três mais importantes monossacarídeos: D-glicose, D-frutose e D-galactose [Pigman e Horton, 1970].

2.4.3. Escurecimento não-enzimático

As reações não enzimáticas de escurecimento englobam reações de desidratação, fragmentação e polimerização, das quais a química e a cinética não foram suficientemente descritas. Quando as reações ocorrem na ausência de compostos nitrogenados, elas são descritas como reações de caramelização, e quando na presença de compostos nitrogenados, especialmente aminas primárias e secundárias, são chamadas de reações de Maillard. O desenvolvimento da reação depende de fatores como temperatura, pH, natureza e concentração dos reagentes e tempo de reação. Também açúcares de reversão, fragmentação e desidratação como o diacetil, ácidos acético e fórmico, furfural e hidroximetilfurfural proporcionam aroma característico de caramelo. Os pigmentos de caramelo são polímeros com núcleos piranos ou colóides com variados tamanhos de partículas [Shallenberger e Birch, 1975].

2.5. Gengibre

O gengibre (*Zingiber offinale* Roscoe), planta da família Zingiberaceae, é originário do sudoeste asiático. O gengibre é comercializado internacionalmente, na forma seco, além dos rizomas, sob a forma de produtos derivados, tais como o óleo essencial e a oleoresina. O óleo essencial contém componentes voláteis responsáveis pelo aroma, enquanto a oleoresina contém além dos constituintes voláteis aromáticos, os componentes não voláteis, responsáveis pela pungência característica do gengibre. [Taveira *et al*, 1997 b]. É usado nas indústrias de alimentos, de bebidas, farmacêutica e de perfumaria. O gengibre também é usado como agente imunoestimulante em peixes [Süheyla *et al*, 2003], tem efeitos anti-emético e anti-pirético [Hori *et al*, 2003], anti-inflamatório e anti-trombótico [Thomson *et al*, 2002]. O extrato de gengibre de extração supercrítica mostrou efeitos antioxidante e bactericida, tendo mostrado atividade no tratamento de células cancerígenas "in vitro" de mama e pulmão [Zancan, 2002]. O gengibre brasileiro (Tabela 2.1) é comercializado no estado fresco e se destina basicamente à exportação [Taveira *et al*, 1997 a,b].

(%)	Tipo Gigante	Tipo Caipira
Umidade	80 - 85	80-90
(g/100g mat. seco)		
Carboidrato Total	78,5 - 81,6	76,3 - 84,8
Proteína	7,2-7,7	5,6 - 13,8
Extrato Etéreo	3,6 – 7,3	3,6-8,4
Fibra Total	9,6 – 16,2	5,5 – 11,7
Cinzas	6,9 – 7,1	4,3-8,0
Extrato Alcoólico	5,4-8,1	1,7 - 8,0
Extrato Volátil	1,5 – 2,6	0,4-2,7
Extrato Não-volátil	2, 1 - 4, 7	2,0-6,0

Tabela 2.1 - Características gerais de dois tipos de gengibre Brasileiro

2.6. Bagaço de cana

O bagaço de cana, importante resíduo da indústria de açúcar e etanol, possui grande potencial de utilização para a produção de um grande número de compostos químicos provenientes da conversão de seus principais constituintes. A Tabela 2.2 mostra a composição do bagaço de cana.

Tabela 2.2 - composição média do bagaço de cana

Componentes do Bagaço de Cana	(%)(Base Seca)
	[Souza, 1984]	[Silva, 1988]
Celulose		46,35 ^(a)
Homocelulose (hemicelulose + celulose)	77,8 ^(e)	
Lignina	21,8 ^(e)	$22,02^{(a)}$
Extrativos em Etanol/ Benzeno	5,4 ^(a)	2,16 ^(a)
Extrativos em Etanol		0,65 ^(b)
Cinzas	3,3 ^(d)	
Extrativos em Água Quente	10,2 ^(b)	2,28 ^(c)

(a) em relação ao bagaço não extraído e não corrigido para cinzas

(b) em relação ao bagaço extraído em etanol/ benzeno

(c) em relação ao bagaço extraído em etanol/ benzeno e etanol

(d) em relação ao bagaço não extraído

(e) em relação ao bagaço extraído em etanol/ benzeno e em água quente e não corrigido para cinzas

Souza (1984) estudou a separação dos três principais componentes do bagaço de cana e obtiveram a separação da hemicelulose a 170° C com 45 minutos de tempo de reação com 31,6% do bagaço sendo dissolvido (93% de holocelulose e 7% de lignina). A 60 minutos de tempo de reação as frações de celulose e lignina foram muito afetadas, ocorrendo provavelmente uma maior degradação da hemicelulose dissolvida.

A pirólise do bagaço de cana foi estudada por Silva, 1988 e mostrou um aumento no rendimento total do processo com o aumento da temperatura, sendo que a conversão do bagaço a produtos químicos variou de 6% (100° C) para 72% (450° C), fornecendo resinas, asfaltenos e asfaltóis [Silva, 1988].

A separação dos componentes do bagaço de cana foi estudada por Silva (1995) através de pré-tratamento por explosão a vapor (165 – 210° C) e deslignificação com álcali (NaOH 1%, 100° C) do bagaço pré-tratado. A solubilização do bagaço aumentou com o aumento da temperatura, sendo que a 210° C a solubilização do bagaço foi de 64,6%, com 5 minutos de tempo de reação para 58,5%, com 30 minutos de reação, sendo que a decomposição da celulose foi bastante acentuada, produzindo muitos compostos de decomposição. Nesta temperatura a glicose é menos estável que o hidroximetilfurfural ou que este último é produzido pela desidratação direta das unidades de açúcar. A 190° C, um aumento do tempo de reação favoreceu as reações de decomposição do furfural e do hidroximetilfurfural em relação às reações de hidrólise das polioses e da celulose, porém quantidades significativas de glicose foram observadas indicando que a reação de desidratação da celulose para hidroximetilfurfural é mais rápida do que a hidrólise dos oligômeros à glicose. A 210° C iniciaram-se as reações de condensação entre a lignina e os produtos de decomposição da celulose e das polioses, e se intensificaram com o aumento do tempo de reação.

2.7. O Estado Supercrítico

Chama-se estado supercrítico aquele onde o fluido ultrapassa a sua temperatura crítica e sua pressão crítica. O estado físico do fluido supercrítico é nem gás nem líquido, já que o ponto crítico de um fluido marca o término da curva de coexistência vapor-líquido [Gorbaty e Bondarenko, 1998]. Na última década, o uso de processos com fluidos supercríticos aumentou substancialmente em diferentes áreas como: extrações, síntese química, reações e processamento de materiais. Muitos novos processos e produtos têm sido desenvolvidos usando as propriedades físicas e químicas inerentes dos fluidos supercríticos. Os pré-requisitos para este processo, entretanto, são: o conhecimento das propriedades físico-químicas de – e os fenômenos em – misturas supercríticas e a disponibilidade de outros dados químicos de engenharia. Isto requer uma troca efetiva de conhecimento entre um grande número de ramificações da ciência [Hauthal, 2001].

2.7.1. Fluidos Subcríticos e Supercríticos

Os fluidos sub e supercríticos estão sendo usados de modo crescente em reações químicas e bioquímicas devido às vantagens que eles podem oferecer [Krammer e Vogel, 2000]:

A ampla faixa de mudança de suas propriedades físicas e químicas através da variação da pressão e da temperatura.

- Reação em fase homogênea (sem limitação de transferência de massa)
- Influência nas taxas de reação (efeito cinético da pressão)
- Possibilidade de caminhos de reação alternativos
- Alta capacidade calorífica (não formação de "hot spot")
- Regeneração "in situ" de catalisadores (alta solubilidade do carvão)
- Simples separação do produto

2.7.2. A Etapa de Extração Supercrítica (ESC) como um Pré-tratamento para a Hidrólise

Os resíduos provenientes de extração supercrítica (para efeito de extração de produtos de interesse como óleos essenciais) que contêm significativos teores de amido e ou lignocelulósicos são de grande interesse para processos de transformação desta biomassa para obtenção de produtos de alto valor agregado. A etapa de ESC relaxa a estrutura amilácia-celulósica da matriz pelo efeito da pressão, facilitando a hidrólise. Devido ao alto custo de equipamentos de alta pressão, o aproveitamento da etapa de ESC como pré-tratamento para outros processos, como por exemplo a hidrólise, pode melhorar a viabilidade econômica do processo como um todo.

Kim, e Hong (2001) estudaram o pré-tratamento de celulose com dióxido de carbono supercritico e tiveram um significante aumento no rendimento de açúcares finais na hidrólise enzimática, mostrando ser este um tratamento com muitas vantagens como a não toxidade e baixo custo do CO₂, altas concentrações de sólidos nos materiais pré-tratados e baixas temperaturas no pré-tratamento.

Zheng *et al*, (1995) estudaram a explosão de celulose com CO_2 supercrítico e observaram um aumento da reatividade da celulose, melhorando a taxa de hidrólise pelo aumento da área superficial acessível do substrato celulósico. Um aumento da pressão acelera a penetração das moléculas de CO_2 na estrutura cristalina e assim, mais glicose é produzida na hidrólise em relação ao material não tratado com CO_2 .

2.7.3. Reações em meio Sub e Supercrítico

Recentemente, o uso de fluidos sub e supercríticos, especialmente o dióxido de carbono supercrítico e a água sub e supercrítica, como solventes em síntese química tem recebido uma atenção crescente. Fluidos supercríticos são atrativos para uso em reações químicas por causa de suas propriedades únicas. Muitas de suas propriedades físicas e de transporte são intermediárias entre àquelas dos líquidos ou dos gases, por exemplo, a difusividade num fluido supercrítico estando entre a difusividade de um líquido e de um gás, sugere que

reações que têm difusão limitada na fase líquida poderiam tornar-se mais rápidas na fase supercrítica ou compostos que são insolúveis em condições ambientes podem tornar-se solúveis em condições supercríticas, ou contrariamente, sendo solúveis em condições ambientes, poderiam tornar-se menos solúveis em condições supercríticas. A água supercritica tem alta solubilidade para compostos orgânicos e reduzida solubilidade para sais em relação à água em condições ambientes. O aumento da solubilidade pode aumentar a concentração dos reagentes acelerando as taxas de reações em condições supercríticas [Savage *et al*, 1995]. Algumas cinéticas de várias reações em água supercrítica (ASC) têm sido estudadas, tais como oxidação, pirólise e hidrólise de compostos simples. Cos estudos, normalmente são iniciados através de reações com compostos simples. Em caso de misturas, os mecanismos tornam-se complexos e difíceis de ser entendidos em experimentos tradicionais. Entretanto, estudos experimentais sobre a destruição de misturas poderiam ser ainda muito úteis no estudo de possibilidades para a decomposição e reciclagem em ASC. O estudo da cinética global oferece um indício para o entendimento das etapas chaves no processo geral [Milosavljevic, 1995].

Vários autores investigaram os mecanismos de reação e os principais caminhos de reação para uma grande variedade de compostos orgânicos em ambientes aquosos pressurizados. Adicionalmente, considerações termodinâmicas como a influência do equilíbrio de fases e as variações da densidade no sistema de reação multicomponente foram discutidas, assim como mudanças nas propriedades dos materiais de construção, devido à atmosfera corrosiva que pode ocorrer [Albrecht e Brunner, 2001].

As propriedades do fluido supercrítico variam com a densidade, que é uma função forte da temperatura e da pressão na região supercrítica. Isto torna os fluidos supercríticos atrativos como meios de reações químicas dando um maior controle das taxas de reação, equilíbrio, seletividade e atividade catalítica através da manipulação da temperatura e da pressão. Os estudos revelaram que técnicas e conceitos aplicados rotineiramente no estudo de reações em solução podem ser aplicadas para reações em condições supercríticas [Savage *et al*, 1995].

2.7.4. Água Subcrítica

De outras perspectivas, incluindo considerações sobre meio ambiente, segurança, economia, muitos esforcos têm sido feitos no objetivo de diminuir o uso de solventes orgânicos nos laboratórios químicos e processos industriais, além do que poucos solventes podem ser usados em reações químicas em temperaturas acima de 200 °C. O uso da água como meio de reação sub e supercrítico apresenta vantagens adicionais. A água é barata, não-tóxica, não combustível ou explosiva e, como solvente e parceira de reações é ambientalmente segura. O interesse pela água sub e supercrítica como meio reacional tem aumentado por ser extremamente reativa. Água subcrítica – AsC - (150 < T > 370 °C, 40 < T)P > 220 bar) pode agir como um catalisador ácido ou básico [Siskin, 1992 citado por Krammer e Vogel, 2000]. A alta temperatura, o aumento do produto iônico e a mudança na constante dielétrica fazem com que os compostos sejam altamente solúveis na água sob estas condições. A constante dielétrica pode influenciar as taxas de reações com a variação da polaridade ao longo da reação, assim, a densidade pode ser usada para manipular a constante dielétrica e, conseqüentemente as cinéticas de reação. Devido ao aumento do produto iônico a água age como um ácido, aumentando a taxa de hidrólise e conseqüentemente o grau de decomposição. Entretanto, muito acima do ponto crítico (600 °C, 253,3 bar), o produto iônico ou constante de dissociação decresce drasticamente, sendo que esta região de baixa densidade é um meio pobre para a química iônica [Savage et al, 1995]. As altas temperaturas também funcionam como uma barreira higiênica contra contaminantes perigosos como os organismos patogênicos [Albrecht e Brunner, 2001]. Com o uso da água sub e supercrítica, muitas reações químicas acontecem sem a adição de qualquer catalisador, sendo que em condições normais somente seriam possíveis com a adição de algum contribuinte. A dissociação da água, próximo ao ponto crítico, gera suficientemente altas concentrações de H⁺ que dispensa a adição de ácidos. Por exemplo, a hidrólise de ésteres só seria possível, em condições normais, na presença de ácidos ou bases minerais fortes, produzindo grande quantidade residual de ácidos e sais [Krammer e Vogel, 2000].

2.7.4.1. Hidrólise com água sub e supercrítica

Os processos com água sub e supercrítica para compostos orgânicos ainda são estudados de modo limitado. A maioria dos trabalhos realizados estudou processos de conversão de biomassa para produtos de alto valor agregado como a conversão da celulose e seus monômeros, e compostos da madeira.

Vick e Converse (1985) citados por Savage *et al* (1995), usaram misturas de dióxido de enxofre (SO₂) e água acima e próxima do ponto crítico para converter celulose (na madeira) em glicose em temperaturas entre 150 - 200 °C e pressões entre 50 - 131,7 bar em experimentos batelada de até 30 minutos. O rendimento máximo de glicose (42%) foi obtido em condições subcríticas. Operando acima do ponto crítico da mistura o rendimento obtido foi muito menor (2%) e sólidos residuais foram carbonizados. As altas temperaturas empregadas neste caso, e menores quantidades de água em relação aos experimentos em condições subcríticas, são dois fatores que provavelmente colaboraram para o baixo rendimento e a formação de carvão.

Mok e Antal (1990) citados por Savage *et al* (1995), estudaram a conversão da celulose em glicose usando água como solvente em temperaturas próximas da crítica e 340 bar; e consideraram que as vantagens do uso de condições próximas às da crítica são a baixa demanda de calor e a oportunidade de ter catálise ácida com baixas concentrações de ácido, obtendo 55% de rendimento de glicose na hidrólise ácido-catalisada em temperaturas próximas de 220 °C.

Holgate *et al* (1995) examinaram a hidrólise da glicose em temperaturas entre 425 e 600 °C e 246 bar, com tempos de residência em torno de 6 segundos, obtendo conversões de glicose próximas de 97%, e concluíram que a distribuição dos produtos foi sensível à temperatura. Em temperaturas mais baixas o rendimento de gases foi menor, e a maioria dos produtos de decomposição estava na fase líquida, sendo produtos de baixa massa molecular como ácido acético, acetonilacetona e acetaldeído. Em temperaturas mais altas os produtos de decomposição eram somente gases, principalmente H₂ e CO₂.

Kabyemela *et al* (1997a, b, c, 1998) estudaram as reações de decomposição da glicose, celulose, celubiose e os produtos de decomposição da glicose, dihidroxiacetona e gliceraldeído, em condições mais amenas (T = 300 - 400 °C, $\tau = 0.02 - 2.0$ s) e concluíram que várias conversões químicas ocorriam na água próxima ao seu ponto crítico e que o efeito da pressão nas taxas de reação foi pequeno entre 300- 400 bar para temperaturas abaixo do ponto crítico. Porém, próximo do ponto crítico, as propriedades físicas da água (densidade, constante dielétrica, difusividade, viscosidade) sofreram uma drástica variação, causando uma mudança significativa na constante de reação.

Sasaki *et al* (1998) estudaram a hidrólise da celulose em água sub e supercrítica em regime contínuo a 290 - 400 °C e 250 bar e tiveram maiores rendimentos de produtos de hidrólise em meio supercrítico (75%). Em regiões de temperaturas mais baixas a taxa de conversão de glicose ou oligômeros foi muito mais rápida que a taxa de hidrólise da celulose, diminuindo o rendimento dos produtos de hidrólise. Próximo ao ponto crítico, a taxa de hidrólise deu um salto e tornou-se mais rápida que a taxa de decomposição da glicose ou oligômeros.

Rubio *et al* (1998) estudaram o fracionamento de lignocelulósicos (corn stalk) a 200 – 220 °C e 120 bar, numa suspensão aquosa (4% m/m), conseguindo solubilizar a maioria da hemicelulose e obtendo açúcares poliméricos e monoméricos e seus produtos de degradação, além do resíduo sólido de celulose-lignina, e uma energia de ativação de 108,4 kJ × mol⁻¹ e um fator de freqüência de 1,088 × 10¹¹ min⁻¹.

Garrote *et al* (2001) estudaram a autohidrólise da espiga de milho a 145- 190 °C durante 0 - 12,3 horas numa taxa sólido: líquido de 8 a 10 kg/kg e obtiveram xilooligossacarídeos, xilose e furfural. Os parâmetros cinéticos foram calculados considerando reações de primeira ordem, pseudo-homogêneas, paralelas e consecutivas que envolveram a degradação das xilanas susceptíveis para xilooligossacarídeos de alta massa molecular, a hidrólise destes compostos para xilooligossacarídeos de baixo peso molecular (xilose e furfural), e posterior desidratação destes compostos.

Oomori *et al* (2004) estudaram a hidrólise de dissacarídeos contendo resíduos de glicose em água subcrítica e concluíram que a susceptibilidade à hidrólise depende do tipo de monossacarídeo constituinte e do tipo de ligação glicosídica envolvida.

A literatura fornece somente uns poucos valores para ordens globais de reações para a água [Savage *et al*, 1995]. Muitas investigações têm sido realizadas estudando a cinética química e a distribuição dos produtos da hidrólise de celulose e biomassa com água sub e supercrítica [Minowa, 1998]; [Saka e Ueno, 1999], [Sasaki *et al*, 2000], [Mok e Antal, 1992], [Ando *et al*, 2000]. Os autores concluíram que a reação geral de decomposição segue uma cinética de primeira ordem e que numerosos caminhos de reação produzem mono, polissacarídeos e derivados, e produtos de degradação, além do que a pirólise pode ocorrer como uma reação competitiva. Apesar dos mecanismos de reação de pirólise serem abundantemente estudados, ainda permanece um certo grau de contradições, por isso a pirólise de biomassa é ainda extensivamente estudada [Albrecht e Brunner, 2001].

3. Materiais e Métodos

3.1. Matéria-prima de hidrólise

Os bagaços de gengibre usados nos ensaios de hidrólise foram provenientes de extrações de Zancan *et al* (2002) e foram estocados em sacos plásticos, a –10 °C logo após o processo de extração. Nos ensaios de hidrólise foram usados 5 lotes de bagaço de gengibre de diferentes ensaios de extração supercrítica, sendo que o bagaço KD resultou da mistura de 3 lotes distintos, como indicado na Tabela 3.1. O bagaço de gengibre foi caracterizado em relação à umidade [Jacobs, 1981], açúcares redutores [Nelson, 1944] e outros constituintes conforme os métodos da AOAC, (1997): amido (Método N° 32.2.05), lipídeos (Método N° 32.1.25), cinzas (Método N° 4.1.10), proteína total (Método N° 32.1.22) e fibras (Método N° 4.6.01).

Código	Condições de	Solvente e Co-solventes da ESC	Tempo de
	Operação da ESC	(% co-solvente v/v)	Armazenamento
			(meses)
KB ₁₆	250 bar e 25 °C	CO_2 + Etanol (1,17%)	16
KC ₂₂	250 bar e 25 °C	CO_2 + Etanol (1,5%)	22
KD ₃₁	250 bar e 35 °C	CO_2 + Etanol (1,5%)	31
	250 bar e 35 °C	CO ₂ + Álcool Isopropílico (1,17%)	31
	250 bar e 25 °C	CO ₂ + Álcool Isopropílico (1,17%)	31

Tabela 3.1 - Identificação do bagaço de gengibre usado nos estudos de hidrólise

Vazão de CO₂ na ESC de 5.8×10^{-5} kg/s e quantidades iguais de tamanhos de partículas de meshes 16, 22, 32, e 48. O sub-índice no código do bagaço representa o tempo de armazenamento sob congelamento

3.2. Outras matérias-primas de hidrólise

O gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) foi adquirido no mercado municipal (Campinas, São Paulo, Brasil), e a cúrcuma (*Curcuma longa* L.) foi proveniente de Maringá, Paraná, Brasil. O bagaço de cana (*Saccharum officinarum*) foi adquirido na Usina Virgolino de Oliveira (Tapira – SP, safra 2002), e acondicionado em saco plástico em freezer até o momento da utilização.

As matérias-primas de hidrólise de características amiláceas (gengibre e cúrcuma) foram caracterizadas em relação ao teor de amido (Método N° 32.2.05) [AOAC, 1997], açúcares redutores [Nelson, 1944], açúcares totais [Miller, 1958] e umidade, que foi analisada pelo método (4.1.03) [AOAC, 1997] para o bagaço de gengibre e pelo método de Jacobs (1981) para os frescos processados e para os secos/ moídos. O bagaço de cana foi caracterizado em relação ao teor de fibras totais (Método N° 4.6.01) [AOAC, 1997], açúcares redutores [Nelson, 1944] e açúcares totais [Miller, 1958], e umidade [AOAC, 1997].

O gengibre e a cúrcuma frescos foram passados por processador doméstico (Wallita, Mod. Master, São Paulo, Brasil) e estas matérias-primas são chamadas de fresca processada (FP). O tamanho médio de partícula, após a passagem pelo processador, foi medido considerando a partícula como uma elipse, sendo feitas inúmeras medidas através de projeção sobre um papel milimetrado (Anexo D), e calculado o valor médio, através de média aritmética simples.

O gengibre e a cúrcuma considerados como secos/ moídos são aqueles que, após serem triturados em processador doméstico, foram secos em estufa de circulação a ar (Fanem, 320-SE) a 32 °C, moídos em moinho (Marconi, Tipo Wiley, MA 340) e passados em peneiras de 22, 32 e 48 mesh. Foi efetuada a mistura de partes iguais dos três diferentes meshes. As misturas foram identificadas e acondicionadas em sacos plásticos em freezer até o momento da utilização.

O bagaço de gengibre é o resíduo de extração supercrítica (ESC) do gengibre seco/ moído. A ESC foi realizada a 250 bar e 35 °C e usando CO_2 como solvente e Álcool Isopropílico (1,17%) como co-solvente. Após a extração, o bagaço foi acondicionado em saco plástico em freezer até o momento da utilização. Os dados da ESC estão no Anexo D.

3.3. Testes Preliminares de Hidrólise

3.3.1. Testes de Hidrólise em Micro-reator

Foi usada inicialmente uma autoclave de aço inox (Marca Berghof, Modelo BTR-941), com volume total de 500 cm³, acoplada a um micro-reator, com um volume de 1,25 cm³, uma entrada de CO₂, um orifício de saída de material, manômetro e termômetro. O aquecimento da autoclave era efetuado por uma manta de aquecimento (Marca Berghof, Modelo RHM-590) e o micro-reator era aquecido eletricamente, através de uma fita de aquecimento (Marca Fisatom, Modelo 6). Um desenho esquemático do sistema está mostrado na Figura 3.1.



1- Autoclave

- 2- Manta de Aquecimento
- 3- Flange de Vedação
- 4- Válvula de Entrada da Autoclave
- 5- Válvula de Alívio
- 6- Válvula de Saída da Autoclave
- 7- Válvula de Saída do Micro-reator
- 8- Válvula Micrométrica
- 9- Micro-reator
- 10- Termômetro
- 11- Termopar
- 12- Manômetro

Figura 3.1 - Sistema autoclave/micro-reator.

3.4. Procedimento Experimental em Reator Semi-contínuo

3.4.1. Equipamento de Hidrólise

O equipamento Spe-ed SFE (Marca Applied Separations, Modelo 7071) trabalha em pressões de até 670 bar e temperaturas de até 240 °C. O equipamento é mostrado na Figura 3.2.



Figura. 3.2 - Equipamento utilizado para reação de hidrólise Spe-ed SFE.

O sistema consta de um reator com 5 cm³ de volume útil, instalado dentro de um forno de aquecimento elétrico. O CO₂ é resfriado num banho com etilenoglicol e o sistema de pressurização é formado por um bomba pneumática, onde o CO₂ (pureza 99,0%, Gama, S.S. ONU 1013, Campinas, SP) é bombeado por nitrogênio até 6,9 bar.



Um esquema do processo de hidrólise é mostrado na Figura 3.3.

- 1- Cilindro de nitrogênio
- 2- Cilindro de dióxido de carbono
- 3- Banho de resfriamento de CO₂
- 4- Bomba Pneumática
- 5- Forno de aquecimento
- 6- Reator
- 7- Rotâmetro
- 8- Indicador digital de pressão
- 9- a e b, manômetros
- 10-a, b e c, termopares
- 11- indicador digital de temperatura

Válvulas

- a- de nitrogênio
- b- de dióxido de carbono
- c- de entrada de CO₂ pressurizado
- d- de alívio
- e- de saída de CO₂ e produto
- f- micrométrica

Figura. 3.3 - Diagrama esquemático do equipamento Spe-ed SFE

A temperatura do processo é controlada por um termopar colocado na parede externa do reator, sendo que esta temperatura é considerada ser a mesma do interior do reator (desprezando-se a resistência à troca de calor da parede do reator, por se tratar de aço inox, material com alta condutividade térmica). O produto de reação é coletado com a abertura da válvula de saída, com o auxílio de uma válvula micrométrica.

3.4.1.1. Limpeza do equipamento

Após cada ensaio, o reator era desmontado (corpo do reator, filtros, selos e tampas) e lavado em água corrente e enxaguado com água destilada. Depois, era imerso em água destilada e colocado em ultra-som por 5 minutos. Depois de sonificado, era imerso em solução de etanol e colocado para secar por 5 minutos. Com o auxílio de uma seringa, passava-se água destilada na tubulação de saída do reator, repetindo-se esta operação por três vezes, depois, o mesmo procedimento era repetido com etanol.

O reator limpo e vazio era conectado, fechava-se a válvula de saída do sistema e abria-se a entrada de CO_2 . Após a estabilidade da pressão do sistema, fechava-se a válvula de entrada de CO_2 e abria-se a válvula de saída do sistema. Esta operação era repetida três vezes. O reator era desconectado e estava pronto para uso em outro ensaio.

3.4.2. Processo de hidrólise

Colocou-se lã de vidro na extremidade inferior do reator. O reator (com a lã de vidro e com a tampa inferior) foi pesado em balança semi-analítica (Marca Marte, Modelo AS 2000, \pm 0,01 g, Brasil). O bagaço de gengibre e a água foram pesados, na proporção desejada, em balança analítica (Marca Sartorius, Modelo A 2005, precisão de \pm 0,0001g, Alemanha), homogeneizados, e colocados no reator. Este procedimento foi padronizado de modo a se obter a mesma massa inicial no reator. Colocou-se lã de vidro na extremidade superior do reator, o reator foi fechado e conectado no forno de aquecimento. Se ocorresse vazamento no selo do reator, o mesmo era trocado e o experimento refeito. Mantendo-se as válvulas de entrada e de saída de CO₂ fechadas, o sistema de aquecimento foi ligado e o sistema foi aquecido até a temperatura de processo. O tempo de aquecimento variou de acordo com a temperatura do ensaio. Para a menor temperatura (132 °C) levou 36 minutos, e para a maior (188 °C) levou 45 minutos. Assim, o tempo médio de aquecimento foi de 39 \pm 2 minutos. Depois de alcançada a temperatura desejada, simultaneamente, a bomba de CO₂ foi ligada e a válvula de entrada de CO₂ foi aberta, e CO₂ (99,0% de pureza - Gama, S.S. ONU 1013, Campinas) foi admitido no sistema. Uma vez alcançada a pressão de

operação (1-2 seg), o reator foi mantido na temperatura e pressão de processo durante o tempo de reação desejado (período estático ou tempo de reação). Decorrido o tempo de reação, a válvula de saída de CO_2 foi aberta e o produto foi arrastado do reator, usando-se uma vazão de CO_2 de 7,48 ± 0,05 × 10⁻⁵ kg s⁻¹. O CO_2 foi separado da fração líquida por descompressão, saindo para a atmosfera. O produto foi coletado em dois frascos em série, imersos em banho de gelo, pesado e guardado em freezer para posterior análise. Para acelerar o resfriamento do sistema, a porta do forno foi aberta e um ventilador externo resfriou o reator. A tampa superior do reator foi retirada, e o reator contendo o material residual foi pesado. O material residual foi retirado do reator e acondicionado em freezer para análises posteriores. O balanço de massa do sistema era calculado após cada experimento de hidrólise e quando as perdas do processo ultrapassavam 10%, o experimento era descartado e o ensaio repetido (A análise de variância - Anexo B - para as perdas do processo indicou que a pressão e a temperatura não foram estatisticamente significativas).

3.4.3. Cinética de hidrólise

Baseando-se nos resultados dos estudos de tempo de reação constante, analisados com a metodologia de superfície de respostas, os testes de cinética de hidrólise foram realizados com o bagaço KD (Tabela 3.1) a 150 bar e 176 °C, 188 °C e 200 °C, usando-se uma razão de bagaço de gengibre: água de (3:7) e uma vazão de CO₂ de 7,48 \pm 0,05 \times 10⁻⁵ kg s⁻¹. O tempo necessário para que o sistema atingisse a temperatura de operação foi de 47 \pm 2 minutos. Foram avaliados os seguintes tempos de reação: 1, 5, 7, 9, 11 e 15 minutos, sendo que para 188 °C foi também avaliado o tempo de reação de 3 minutos. A cinética da hidrólise do amido, em tempos inferiores a um minuto de reação, não foi estudada devido a dificuldades experimentais.

3.5. Caracterização do produto e material residual

3.5.1. Análises Gerais

Para as matérias-primas amiláceas, os produtos de reação foram caracterizados com relação à quantidade de açúcares redutores [Nelson, 1944] e, pH (Método AOAC N° 32.1.20) [AOAC, 1997]. Os materiais residuais que permaneceram no reator, após a retirada dos produtos, foram caracterizados com respeito à quantidade de açúcares redutores [Nelson, 1944] e conforme método da AOAC (1997) para a quantificação de: amido (Método N° 32.2.05) e umidade (Método N° 4.1.03).

Para o bagaço de cana, os resíduos de reação foram caracterizados em relação ao teor de fibras totais [AOAC, 1997], açúcares redutores [Nelson, 1944], açúcares totais [Miller, 1958] e umidade [AOAC, 1997]. Os produtos de reação foram analisados em relação ao teor de açúcares redutores [Nelson, 1944] e açúcares totais [Miller, 1958].

3.5.2. Estudos Cinéticos

Além das análises gerais, nos ensaios de cinética, os produtos de reação foram analisados em relação ao teor de sólidos totais (Método N° 33.2.09) [AOAC, 1997] para a avaliação do teor de dextrose equivalente; e distribuição de massa molecular através de cromatografia de permeação em gel (GPC). Os produtos de reação do ensaio cinético realizado a 188 °C, 150 bar, foram avaliados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

3.5.2.1. Dextrose Equivalente dos Produtos de Reação

A dextrose equivalente dos produtos de reação foi calculada segundo a equação:

$$DE\left(\%\right) = \frac{AR_{P}\left(g\right)}{ST_{P}\left(g\right)} \times 100$$
(3.1)

Onde: AR_P é a massa de açúcares redutores no produto de reação e ST_P é a massa de sólidos totais no produto de reação.

3.5.2.2. Determinação da massa molecular

Na determinação da massa molecular dos produtos de reação, bem como sua distribuição, foi utilizada a cromatografia de permeação em gel (GPC), com um cromatógrafo líquido de alta performance (Varian Associates Inc., Model 9095, Sunnyvale, E.U.A.) acoplado a um detector de índice de refração (Varian Associates Inc., Model R14, Sunnyvale, E.U.A.) e um conjunto de três colunas e uma pré-coluna (Varian Associates Inc., série Micropak, Sunnyvale, E.U.A.). As colunas foram conectadas em série na seqüência de poro decrescente (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 - Características das colunas utilizadas para GPC para determinação da distribuição percentual da massa molecular dos produtos de reação das cinéticas a 150 bar e 176 °C, 188 °C e 200 °C

Colunas TSK - GeI	Massa Molecular da amostra	Comprimento	Diâmetro
	(Da)	(cm)	(cm)
G 3000 PW	Até 6×10^4	30	0,75
G 4000 PW	$1000 - 7 \times 10^5$	30	0,75
G 6000 PW	$5 \times 10^5 - 5 \times 10^7$	30	0,75
Pré-coluna		7,5	0,75

Água ultrapura (Millipore Corporation, Milli-Q Plus, Bedford, E.U.A.) degaseificada a 1,0 mL min⁻¹ foi utilizada como fase móvel. Foram utilizados padrões de dextrana (American Polymer Standards Corporation, USA) para a construção da curva-padrão com massas moleculares entre 12 – 5.000 kDa (Tabela 3.3). Os dados foram processados pelo software Millennium Chromatography Manager v 2.1 (Waters Corporation, Milford, E.U.A.). A distribuição da massa molecular das amostras foi obtida através da curva de calibração. Os padrões de dextrana foram dissolvidos em água ultrapura na concentração de 0,4 % (m/v), deixadas em repouso por 16 a 20 horas antes de serem injetadas. Este tempo é necessário para permitir que a cadeia do polímero se estenda para sua conformação de solvatação no solvente, principalmente para padrões com massa molecular acima de 200.000 Da.

cineticas a 150 dar e 176 °C, 188 °C e 200 °C			
Padrão	Мр	Mw	Mn
DXT 11K	9.900	11.700	8.000
DXT 43K	35.000	42.750	28.700
DXT 79K	68.000	78.800	49.400
DXT 165K	150.000	165.500	110.800
DXT 685K	500.000	685.000	380.600
DXT 1750K	1.450.000	1.750.000	1.250.000
DXT 5000K	4.500.000	4.900.000	1.500.000

Tabela 3.3 - Massas moleculares dos padrões de dextrana utilizados na curva-padrão para determinação da distribuição percentual da massa molecular dos produtos de reação das cinéticas a 150 bar e 176 °C, 188 °C e 200 °C

Mw: Massa molecular média ponderal (por emparelhamento de luz de laser de baixo ângulo - LALLS). Mn: Massa molecular média numérica (Por osmometria de membrana, por osmometria de pressão de vapor/

por análise de grupos terminais).

Mp: Massa molecular média do pico.

3.5.2.3. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Os produtos de reação dos ensaios realizados a 188 °C, 150 bar foram analisados por cromatografia líquida de alta performance (Shimadzu Corporation, LC-10, Kyoto, Japão) com a coluna Shim-pack SCR- 101P 7,9 × 30 cm (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) a 80 °C e usando água ultrapura a 0,6 mL min⁻¹ e detector de índice de refração (Shimadzu Corporation, RID-6A, Kyoto, Japão).

Foram preparados os padrões glicose, frutose, sacarose, rafinose, galactose, xilose e eritriose, possíveis produtos de hidrólise de material amiláceo. Os padrões foram preparados a 0,2%; 0,5%; 1,0%; 1,5% e 2,0% (m/v) com água ultrapura, e filtrados em membranas $0,22 \mu$ m (Millipore Corporation, Bedford, E.U.A.).

3.6. Planejamento Experimental

Baseado na literatura sobre hidrólise de materiais celulósicos e em testes preliminares, o primeiro grupo de ensaios (tempo de reação constante) foi realizado utilizando um planejamento fatorial com 2 níveis de pressão (100 e 200 bar), dois níveis de temperatura

(140 e 180 °C) e um ponto central (150 bar e 160 °C); sendo que os ensaios foram realizados em triplicata e com quintuplicata no ponto central [Petenate, 2000]. Os resultados obtidos neste ensaio indicaram a necessidade de avaliação da hidrólise numa região maior de temperatura e pressão. Assim, testes de hidrólise foram realizados nos pontos axiais: 132 e 188°C e 80 e 220 bar, em triplicata. A memória de cálculo para o planejamento experimental está no Anexo B. Os ensaios foram realizados utilizando-se uma razão de bagaço de gengibre: água de (3:7) na alimentação do reator, 15 minutos de tempo de reação e uma vazão de CO₂ de 7,48 \pm 0,05 \times 10⁻⁵ kg s⁻¹. Estes ensaios utilizaram os bagaços KB e KC (Tabela 3.1).

3.7. Procedimento de cálculos

3.7.1. Balanço de Massa do Processo

O bagaço de gengibre seco foi a base para o balanço de massa do processo, sendo que um esquema do processo é mostrado na Figura 3.4:



Figura 3.4 - Diagrama esquemático do sistema de reação em equipamento Spe-ed SFE.

As perdas do processo foram avaliadas usando-se a seguinte equação:

$$\% L = \left[1 - \frac{(m_P + m_W)}{(m_B + m_A)}\right] \times 100 \tag{3.2}$$

onde: m_A é a massa de água na alimentação, m_B é a massa de bagaço na alimentação, m_P é a massa de produto, e m_w é a massa de material residual.

3.7.2. Rendimento

O rendimento da reação (y, m) ou teor de açúcares redutores foi calculado como:

$$y = \frac{AR_W + AR_P}{Am_B}$$
(3.3)

onde: AR_P é a massa de açúcares redutores na corrente de produto, AR_W é a massa de açúcares redutores no material residual, Am_B é a massa inicial de amido no bagaço de gengibre.

O açúcar redutor presente no bagaço de gengibre inicial não foi considerado no cálculo do rendimento por se considerar que esta quantidade é rapidamente degradada no processo de hidrólise.

A hidrólise dos lignocelulósicos presentes no bagaço de gengibre não foi avaliada.

3.7.3. Grau de Hidrólise

O grau de hidrólise (X) ou a conversão do amido foi definida como:

$$X = \frac{Am_B - Am_W}{Am_B}$$
(3.4)

onde: Am_W é a massa de amido no material residual de reação.

3.7.4. Análise Estatística

A análise de variância (ANOVA) e o ajuste da superfície de resposta foram feitos para analisar a influência da temperatura e da pressão no teor de amido hidrolisado, no rendimento em açúcares redutores e nas perdas do processo. O software Minitab v 13.1 foi usado. A metodologia de superfície de resposta foi usada para procurar as condições de temperatura e pressão que maximizasse a hidrólise do amido sem produzir muitos produtos de degradação [Petenate, 2000].

4. Resultados e Discussões

No Anexo A encontra-se uma cópia do artigo *Hydrolysis of Ginger Bagasse Starch in Subcritical Water and CO*₂, publicado no *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Neste artigo foram relatados e discutidos os resultados dos ensaios realizados conforme a metodologia descrita no Capítulo 3. No presente capítulo serão discutidos alguns dos aspectos que, devido às limitações de espaço, foram apresentados resumidamente no referido artigo.

4.1. Testes Preliminares de Hidrólise

4.1.1. Testes de Hidrólise em Micro-reator

Inicialmente utilizou-se a autoclave com aproximadamente 500 cm³ de água, colocada dentro do copo de teflon. Porém, observou-se que o material componente do copo dificultava a troca de calor entre a manta aquecedora e a água contida no copo. Então foram realizados experimentos de produção de água superaquecida retirando-se o copo de teflon e colocando a água diretamente no recipiente metálico. Deste modo observou-se uma melhor taxa de aquecimento da água, obtendo-se pressões de 38 bar a 243 °C. Para se obter maiores valores de pressão do sistema, injetou-se inicialmente CO₂ a 60 bar, obtendo-se assim, após o aquecimento (até a temperatura de 242 °C), uma pressão de 112 bar. Porém, problemas ocorridos com a vedação do sistema tornaram seu funcionamento inviável, e seu uso foi descartado.

4.1.2. Ensaios preliminares em reator semi-contínuo

Os testes iniciais de hidrólise no equipamento Spe-ed SFE proporcionaram um treinamento de operação do sistema. Durante os testes iniciais de hidrólise ocorreram perdas de material por problemas de vedação e/ou arraste do produto hidrolisado pelo CO₂. Estes problemas foram minimizados através do uso de selos novos e da utilização de dois frascos de coleta de produto colocados em série, imersos num banho de gelo e salmoura.

4.1.2.1. Ordem de aquecimento/ pressurização do sistema de reação

Experimentos foram realizados com o objetivo de se avaliar a influência da ordem entre o aquecimento e pressurização do sistema de reação. Os testes foram realizados a pressão constante (100 bar) e nas temperaturas de 140 °C, 160 °C e 180 °C e tempo de reação de 15 minutos. Foram realizados dois testes distintos, sendo que o teste 1 foi realizado aquecendo inicialmente o sistema até a temperatura de processo, e uma vez atingida a temperatura de reação, o sistema foi pressurizado até a pressão de reação com a entrada de CO_2 . O teste 2 foi realizado pressurizando-se inicialmente o sistema até a pressão de reação, o sistema foi aquecido até a pressão de reação, o sistema foi aquecido até a pressão de reação, o sistema foi aquecido até a temperatura de sistema até a pressão de reação de processo, com a entrada de CO_2 , e uma vez atingida a pressão de reação, o sistema foi aquecido até a (3: 7) para o teste 1, e (2,8: 7,2) para o teste 2.

4.1.2.2. Razão de bagaço de gengibre e água na alimentação do reator

Foram avaliadas as razões de (0,9: 9,1) (teste 3) e (3: 7) (teste 1, citado no item anterior) de bagaço na alimentação do reator. O uso de maior quantidade de água na alimentação do reator foi impossibilitado devido a limitações do equipamento. Estes ensaios utilizaram os bagaços KB e KC (Tabela 3.1).

Os resultados obtidos nos testes de ordem de aquecimento/ pressurização e percentagem de bagaço de gengibre na alimentação do reator estão mostrados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Rendimento, teor de amido hidrolisado para ordens distintas de aquecimento/ pressurização do sistema de reação e distintas razões de bagaço de gengibre: água na alimentação do reator na hidrólise do bagaço de gengibre a 100 bar

	Grau de l	Hidrólise ('	%)	Rendiment	0 (%)		Perdas (%))	
Т	Teste			Teste			Teste		
(°C)	$1^{(3:7)}$	$2^{(2,8:7,2)}$	$3^{(0,9:9,1)}$	$1^{(3:7)}$	$2^{(2,8:7,2)}$	30 ^(0,9:9,1)	$1^{(3:7)}$	$2^{(2,8:7,2)}$	3 ^(0,9:9,1)
140	63 ± 9	59 ± 3	54 ± 8	14 ± 1	7 ± 1	6 ± 1	4 ± 1	3 ± 1	8 ± 2
160	67 ± 6	58 ± 5	57 ± 6	9 ± 2	5 ± 1	5 ± 1	3 ± 2	6 ±2	7 ±2
180	72 ±7	73 ± 12	61 ± 7	$9,4 \pm 0,4$	5 ±1	4 ± 1	4 ±2	7 ±2	9 ±1

Os números entre parênteses representam a razão de bagaço: água na alimentação do reator

Teste 1 e Teste 3: aquecer o sistema até a temperatura de reação e depois pressurizar até a pressão de reação. Teste 2: pressurizar o sistema até a pressão de reação e depois aquecer até a temperatura de reação. O rendimento em açúcares redutores, obtido no teste 1 (aquece/ pressuriza) foi muito superior ao obtido no teste 2 (pressuriza/ aquece) para as três temperaturas estudadas. O grau de hidrólise foi maior para o teste 1 a 140 °C e 160 °C e, aproximadamente igual para 180 °C. O efeito da pressurização, anteriormente ao aquecimento tendeu a maximizar o grau de hidrólise, porém minimizou o rendimento, pela possível degradação dos açúcares formados. Comparando-se os resultados obtidos nos testes 1 (B: A = 3: 7) e 3 (B: A = 0,9: 9,1) observou-se que o rendimento em açúcares redutores e o teor de amido hidrolisado foram menores no teste 3.

Como o objetivo deste estudo foi a maximização do grau de hidrólise e do rendimento em açúcares redutores, e baseado nos resultados obtidos nos testes 1 2 e 3, os testes subseqüentes de hidrólise foram realizados com o modo aquece/ pressuriza (aquecimento anterior do sistema até a temperatura de reação e, posterior pressurização do sistema até a pressão de reação) e usando-se uma razão de bagaço de gengibre: água na alimentação do reator de 3: 7.

4.1.3. Caracterização da Cinética de Reação

4.1.3.1 Exploração inicial da influência do tempo de reação nas variáveis respostas do processo de hidrólise.

Foram realizados testes de hidrólise com tempo de reação de 1 minuto, a fim de se avaliar a influência do tempo de reação no grau de hidrólise e no rendimento em açúcares redutores. Os ensaios foram realizados a 140 °C e 180 °C em dois níveis de pressão: 100 bar e 200 bar. Utilizou-se uma alimentação com uma razão de 3:7 de bagaço de gengibre: água. Os testes de cinética utilizaram o bagaço KC (Tabela 3.1) e vazão de CO₂ de 7,48 ± $0,05 \times 10^{-5}$ kg s⁻¹, sendo que níveis de perdas de processo de até 10% foram considerados aceitáveis. Os resultados obtidos são mostrados nas Figuras 4.1.



Figura 4.1 - Grau de hidrólise e rendimento em açúcares redutores na hidrólise de bagaço de gengibre a 100 bar e 200 bar, a 140 °C e 180 °C, tempo de reação de 1 minuto e razão de bagaço: água de 3: 7.

Os ensaios de hidrólise num tempo de reação de 1 minuto (Figura 4.1) mostraram um ponto de inflexão entre o comportamento dos valores de amido hidrolisado e rendimento, ou seja, o aumento da temperatura causa um aumento do amido hidrolisado e um decréscimo do rendimento, assim como uma pequena influência da pressão no intervalo estudado. Estes resultados indicaram a importância de um estudo cinético da hidrólise do bagaço de gengibre.

4.2. Hidrólise de Bagaço de Gengibre em Água Subcrítica e CO₂

Os resultados obtidos nos ensaios de planejamento experimental 2², com tempo de reação constante, estão mostrados nas Figuras 4.2. Os produtos de reação apresentaram uma coloração marrom amarelada com aroma misto de caramelo e café, podendo caracterizar reação de Maillard. A coloração e o aroma se intensificaram com o aumento da temperatura.



Figura 4.2 - Grau de hidrólise e rendimento em açúcares redutores obtidos na hidrólise do bagaço de gengibre com água subcrítica e CO_2 , com tempo de reação de 15 minutos e razão de bagaço: água de 3: 7 na alimentação do reator.



A Figura 4.3 mostra o aspecto do resíduo (a) e do produto (b) de reação.

Figura 4.3 – Aspecto do resíduo de reação (a) e do produto de reação (b) da hidrólise do bagaço de gengibre com água subcrítica e CO_2 .

Nas temperaturas de 160 e 180 °C, o aumento da pressão tende a causar um aumento no grau de hidrólise e um efeito negativo no rendimento em açúcares redutores, indicando a necessidade de avaliação do comportamento de hidrólise numa região maior de temperatura e pressão, o que envolveu a análise dos pontos axiais que estão mostrados na Tabela 4.2.

		I	
T (°C)	P (bar)	Grau de Hidrólise (%)	Rendimento (%)
140	100	55 ± 12	4,6±0,4
	200	67 ± 5	$5,1 \pm 0,1$
180	100	66 ± 2	4,6 ± 0,1
	200	$70,8 \pm 0,1$	$4,3 \pm 0,5$
160	150	47 ± 7	$3,4 \pm 0,3$
132	150	40 ± 2	$4,9 \pm 0,4$
188	150	61 ± 10	8 ± 2
160	80	41 ± 6	2,9 ± 0,1
160	220	54 ± 5	3,1 ± 0,2

Tabela 4.2 - Grau de Hidrólise e Rendimento do Processo de Hidrólise do Bagaço de Gengibre em Água Subcrítica e CO₂ e tempo de reação de 15 minutos
A análise de variância realizada para os dados da Tabela 4.2 mostrou que para o grau de hidrólise (X) o R^2 para o modelo ajustado foi de 50,1%. Ambos os fatores (temperatura e pressão) foram estatisticamente significantes (p–valor < 0,05; para os coeficientes lineares). Para o rendimento em açúcares redutores (y) somente a temperatura foi estatisticamente significante (para ambos os coeficientes, linear e quadrático, p–valor < 0,05), o R^2 para o modelo ajustado foi de 68,8%. Para as perdas do processo a análise de variância resultou num R^2 para o modelo ajustado de 13% (um valor muito baixo), indicando que nenhum dos coeficientes foi estatisticamente significativos (p–valor > 0,14). Deste modo, concluiu-se que a não quantificação dos produtos gasosos de reação não comprometeu as demais conclusões deste trabalho. Os valores obtidos na análise da variância estão no Anexo B.

A influência da temperatura e pressão no grau de hidrólise no bagaço de gengibre é visualizada na superfície de resposta da Figura 4.4.



Figura 4.4 - Superfície de resposta para os dados de grau de hidrólise na reação de hidrólise do bagaço de gengibre com água subcrítica e CO_2 , com tempo de reação de 15 minutos e razão de bagaço de (gengibre: água) de (3:7) na alimentação do reator.

A influência da temperatura e pressão no rendimento em açúcares redutores da hidrólise do bagaço de gengibre é visualizada na superfície de resposta da Figura 4.5.





Figura 4.5 - Superfície de resposta para os dados de rendimento em açúcares redutores para a reação de hidrólise do bagaço de gengibre com água subcrítica e CO_2 , com tempo de reação de 15 minutos e razão de bagaço de (gengibre: água) de (3:7) na alimentação do reator.

Os maiores valores de grau de hidrólise foram obtidos em qualquer pressão para temperaturas acima de 188 °C ou em qualquer temperatura para pressões acima de 220 bar. Os melhores valores de rendimento foram obtidos em temperaturas acima de 188 °C. A pressão não foi relevante no intervalo testado. É possível que tenha ocorrido degradação dos açúcares redutores formados na região de pressões mais elevadas.

4.3. Estudo da Cinética de Hidrólise

Os resultados obtidos nos testes de hidrólise com tempo de reação constante, através do uso da metodologia de respostas, indicaram uma região de temperatura em torno de 188 °C, na qual seria importante avaliar a influência do tempo de reação no grau de hidrólise e na degradação dos açúcares formados. Na região estudada, como discutido anteriormente, não houve influência significativa da pressão sobre o grau de hidrólise e o rendimento do processo. Baseado nestes resultados os ensaios de cinética de hidrólise foram realizados a 150 bar e 176, 188 e 200 °C.

Os estudos cinéticos mostraram que o grau de hidrólise aumentou com o aumento da temperatura (Figura 4.6), sendo que este comportamento resultou do decréscimo da densidade e da constante dielétrica da água com o aumento da temperatura, facilitando a dissociação da água e acelerando a hidrólise [An *et al*, 1997; Kritzer *et al*, 1999; Savage *et al*, 1995; Krammer & Vogel, 2000; Arai & Adschiri, 1999; Sealock *et al*, 1993].



Figura 4.6 - Grau de Hidrólise do amido de bagaço de gengibre, 176 °C (▲), 188 °C (■), 200 °C (●).

A 188 e 200 °C, a hidrólise do amido foi rápida durante o primeiro minuto de reação e então procedeu a uma taxa menor, sendo que a reação não estava completa a 15 minutos de reação. Assumindo uma seqüência de reações de dois estágios, no primeiro estágio (tempos de reação menores do que 1 minuto), compostos de tamanhos intermediários que são difíceis de hidrolisar são formados e reações de reversão podem ocorrer [Jin *et al*, 2001], uma vez que os produtos formados permanecem no meio reacional, e a quantidade de água podem tornar-se um fator limitante para a hidrólise. Maiores razões líquido:sólido poderiam favorecer um aumento no rendimento de açúcares redutores pois uma menor concentração de açúcares no meio reacional reduz a taxa de decomposição [Yan *et al*, 1996]. A 176 °C o grau de hidrólise do amido foi muito menor quando comparada com a reação a 188 e 200

°C. O máximo grau de hidrólise obtido a 176 °C foi 46,1% a 11 minutos, e a 188 e 200 °C, os maiores valores de grau de hidrólise obtidos foram de 76,6 e 97,1%, respectivamente, a 15 minutos de reação. A dissociação da água, com o aumento da temperatura, pode ser verificado pelo pH dos produtos (Figura 4.7), sendo que grande quantidade de ácido foi formada a 200 °C.



Figura 4.7 – variação do pH dos produtos de reação na hidrólise do bagaço de gengibre, 176 °C (\blacktriangle), 188 °C (\blacksquare), 200 °C (\bullet).

O rendimento da hidrólise (em açúcares redutores) aumentou com o aumento da temperatura (Figura 4.8). A 188 e 200 °C os valores máximos de rendimento foram de 14 e 18 % respectivamente (11 minutos), e o decréscimo no rendimento após este tempo pode ser explicado pela degradação destes açúcares.



Figura 4.8 - Rendimento da hidrólise do bagaço de gengibre, 176 °C (\blacktriangle), 188 °C (\blacksquare) e 200 °C (\bullet).

An *et al* (1997) concluíram que altas temperaturas são necessárias para quebrar as ligações glicosídicas, porém monossacarídeos e oligossacarídeos são mais susceptíveis à decomposição em condições mais suaves. Portanto, maiores rendimentos poderiam ser obtidos se os açúcares produzidos fossem retirados do meio reacional tão logo fossem formados, evitando assim a sua degradação.

A hidrólise do bagaço de gengibre foi avaliada em relação ao amido presente no bagaço, e o rendimento da reação foi calculado em relação ao teor de açúcares redutores (AR) formados a partir do amido. Um mecanismo de reação global de hidrólise do amido pode ser proposto como:

Amido $\xrightarrow{k_{H}}$ AR $\xrightarrow{k_{deg}}$ Produtos de degradação

Onde os subíndices indicam: H - hidrólise; deg - degradação.

Considerando que a hidrólise do amido segue uma cinética de primeira ordem em relação à concentração de amido (X), a forma da expressão global da reação de decomposição do amido pode ser escrita como:

$$\frac{dX_H}{dt} = k_H \left(1 - X_H \right) \tag{4.1}$$

Integrando:

$$\ln(1 - X_H) = k_H t \tag{4.2}$$

Considerando que a constante da taxa de reação seja uma função da temperatura, a equação de Arrhenius é aplicada para a constante de reação como:

$$k_{H} = A_{H} \exp\left(-\frac{\left(E_{a}\right)_{H}}{RT}\right)$$
(4.3)

Onde E_a é a energia de ativação aparente (kJ mol⁻¹); A_H é o fator pré-exponencial (s⁻¹); R é a constante dos gases, 8,314 (J mol⁻¹ K⁻¹) e T é a temperatura (K).

A cinética global de hidrólise foi avaliada através da conversão do amido em açúcares redutores (Figura 4.9) e verificou-se que a reação a 200 °C apresentou um mecanismo de primeira ordem, porém para 176 e 188 °C, uma equação de primeira ordem não mostrou um bom ajuste.



Figura 4.9 – Cinética da hidrólise do amido de bagaço de gengibre com água subcrítica e CO_2 : -ln (1-X) vs tempo de reação a 150 bar e (\blacktriangle) 176 °C, 188 °C (\blacksquare) e 200 °C (\bullet).

A hidrólise do amido resultou numa energia de ativação de 185,1 kJ × mol⁻¹ e um fator pré-exponencial de $5,79 \times 10^{17}$ s⁻¹ (Figura 4.10). Este valor de energia de ativação aparente está coerente com os valores obtidos na literatura para materiais amiláceos/ celulósicos [Rubio, *et al*, 1988; Garrote *et al*, 2002a; Bobleter, 1994; Mochidzuki *et al*, 2000; Garrote 2002b; Milosavljevic and Suuberg, 1995], entretanto o valor do fator pré-exponencial se aproxima dos valores obtidos para hidrotermólise [Mochidzuki *et al*, 2000] e decomposição térmica da celulose [Garrote, 2002b].



Figura 4.10 – Parâmetros cinéticos da hidrólise do amido de bagaço de gengibre com água subcrítica e CO_2 .

O esquema simplificado mostrado para a reação global não consegue descrever completamente as reações complexas que acontecem na hidrólise do bagaço de gengibre em água subcríticas e CO₂, entretanto as curvas experimentais não permitem a determinação de mais do que dois parâmetros para cada curva.

4.3.1. Caracterização dos produtos de Reação

Os produtos de reação foram caracterizados quanto ao teor de dextrose equivalente, conforme mostrado na Tabela 4.3.

Tempo de Reação	Dextrose Equivalente (%)						
(min)	176 °C	188 °C	200 °C				
1	3 ± 1	5 ± 1					
3		5 ± 1					
5	4 ± 1	7 ± 2	17 ± 2				
7	7 ± 1	$6,5 \pm 0,2$	23 ± 4				
9	5 ± 1	5 ± 1	26 ± 5				
11	4 ± 1	6 ± 1	25 ± 9				
15	5 ± 2	6 ± 2	29 ± 4				

Tabela 4.3 - Dextrose equivalente (%) dos produtos de reação da hidrólise do bagaço de gengibre KD₃₁ a 150 bar e 176 °C, 188 °C e 200 °C

Os produtos dos ensaios cinéticos realizados a 176, 188 °C e aqueles até 7 minutos de reação da cinética a 200 °C foram caracterizados como maltodextrinas (DE \leq 20), compostos de grande interesse nas indústrias de alimentos, farmacêutica e de cosméticos, entre outras.

Os produtos de reação foram caracterizados em relação à distribuição de massa molecular através de cromatografia de permeação em gel (GPC) e os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 4.4. Os produtos com massa molecular entre 9.830 e 96.377 Da representam de 30 - 40% do total a 176 e 188 °C, enquanto que a 200 °C somam entre 2,5-10%. Produtos com massa molecular entre 186 e 9.830 Da representam 23 - 53% do total a 176 e 88 °C, enquanto que a 200 °C ocorreu uma maior formação de moléculas menores, representando 100% dos produtos formados com 15 minutos de reação.

Apesar do rendimento do processo de hidrólise ter sido monitorado em relação ao teor de açúcares redutores, verificou-se a formação de compostos com uma ampla faixa de distribuição de massa molecular, sendo que nesta gama de produtos podemos encontrar importantes oligossacarídeos redutores e não-redutores.

Temperatura (°C)	176	188	200	188	176	188	200	176	188	200	176	188	200	176	188	200	176	188	200
Mol (Da)		1 min		3 min		5 min			7 min			9 min			11 min			15 min	
26.331.709 - 10.761.842	2,8	3,4		4,0	2,2	2,7		2,9	1,6		2,4	1,9		2,1	1,6		2,0	1,7	
25.653.855 - 13.389.979			0,7																
7.348.843 - 1.562.279			3,8																
4.806.097 - 1.212.003	4,5	6,3		5,9	3,5	4,1		4,4	3,4		3,6	2,6		3,1	2,6		3,5	2,1	
997.231 - 139.794	ł		2,8																
673.771 - 105.588	3 17,6	20,1		17,5	16,5	15,3		15,2	13,1		13,8	10,9		11,7	11,1		12,6	9,4	
713.460 - 103.579							0,7												
204.175 - 106.396	5									0,2									
96.377 - 12.678	3		9,6																
94.663 - 11.323	5															2,5			
86.172 - 10.595	5												2,7						
85.540 - 12.729										2,7									
79.190 - 13.716	5						5,1												
72.304 - 12.236	37,5	34,2		39,6	36,9	34,4		32,9	34,4		32,2	31,7		31,5	31,9		31,4	29,4	
9.830 - 1.397	/						30,1												
9.688 - 1.442	2									21,6									
8.849 - 1.178	8															18,5			
8.304 - 1.137	7												22,0						
8.312 - 1.228	30,8	28,7		19,4	31,9	33,7		23,4	40,0		31,6	42,6		32,8	43,7		29,5	47,1	
7.890 - 1.515			31,5									• •							
668 - 160	5,8	2,7		2,5	6,0	2,4		2,6	3,3		3,8	3,9		3,7	3,7		4,0	5,1	
668 - 69	0,6	0,5		0,6	0,4	0,4		0,3	0,4		0,5	0,7		0,5	0,5		0,6	0,8	
797 - 186			20,3																
816 - 186													30,7			30,2			
840 - 186																			
882 - 186	2						22,7			• • •									
995 - 186										28,2									
Fora da faixa analisada	0,4	4,1	31,3	10,5	2,6	7,0	41,4	18,3	3,8	47,3	12,1	5,7	44,6	14,6	4,9	48,8	16,4	4,4	100,0

Tabela 4.4 Distribuição de massa molecular (Percentagem Cumulativa) dos produtos de reação a 150 bar e 176, 188 e 200 °C

Os produtos de reação, formados na temperatura constante de 188 °C, foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os valores obtidos através das curvaspadrões são mostrados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5. Caracterização dos produtos de reação por CLAE para a cinética 188°C, 150 bar

		-					
Tempo de Reação (min)	1	3	5	7	9	11	15
Composto			Concer	ntração (m/v %)		
Rafinose	2,58	2,18	2,99				
Sacarose				0,20	0,17	0,15	0,10
Glicose				0,03			
Xilose	0,57	1,29					
galactose	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Frutose	0,70	0,62	0,69	0,60	0,65	0,57	0,64

n.d. não determinado

Observou-se a presença da rafinose (trissacarídeo) até o tempo de reação de 5 minutos, o que pode indicar que a rafinose pode estar sendo decomposta, formando sacarose, a partir dos 7 minutos de reação.



O- α D(+)Galactopiranosil (1 \rightarrow 6), O- α D(+) Glicopiranosil (1 \rightarrow 2) β D (-) Fructofuranosídeo



Figura 4.11 Estrutura química da rafinose

A frutose aparece de 1 até 15 minutos de reação, podendo sua formação ser resultante da epimerização da glicose via abertura do anel da molécula de glicose [Kabyemela *et al*, 1997b]. Os cromatogramas (GPC, CLAE) e as curvas-padrões estão mostrados no Anexo C.

4.4. Hidrólise de outras matérias amilácias-celulósicas

Outras matérias-primas foram hidrolisadas na melhor condição obtida no ensaio cinético (200 °C, 150 bar, t = 11 minutos, com 30% (m/m) de material sólido na alimentação do reator) a fim de se analisar o comportamento da hidrólise de diferentes materiais. Foram usados como matéria-primas:

- Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) fresco processado (FP)
- Gengibre "in natura" seco/ moído
- Bagaço de gengibre
- Cúrcuma (*Curcuma longa* L.) fresca processada (FP)
- Cúrcuma "in natura" seca/ moída
- Bagaço de cana de açúcar (*Saccharum officinarum*)

A Tabela 4.6 mostra a composição de amido, fibras totais, açúcares redutores e açúcares redutores totais destas matérias-primas.

Tabela	4.6 –	Teor	de	amido,	fibras	totais,	açúcares	redutores	(AR)	e	açúcares
redutor	es totai	is (AR'	T) d	las difer	entes m	natérias	-primas de	e hidrólise			

Matéria-prima (% umidade)	Amido	Fibras Totais	AR	ART
		(%) Base	e Seca	
Gengibre seco/ moído ^(4,4)	25 ± 3	nq	$0,19 \pm 0,01$	$1,15 \pm 0,03$
Bagaço de gengibre ^(9,1)	$29,4\pm0,4$	nq	$0,21 \pm 0,01$	$1,4 \pm 0,2$
Cúrcuma seca/ moída ^(8,2)	$29,2\pm0,6$	nq	$0,52 \pm 0,01$	$1,3 \pm 0,2$
Bagaço de cana ^(9,3)	nq	$41,6 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,3$

nq: não quantificado

O gengibre FP e a cúrcuma FP continham respectivamente 72,8 e 65,1% de umidade. Os resultados de grau de hidrólise, rendimento em açúcares redutores e rendimento em açúcares redutores totais, obtidos nos ensaios de hidrólise, estão mostrados na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 – Grau de hidrólise e rendimento em açúcares redutores e açúcares redutores totais das diferentes matérias-primas de reação a 200 °C e 150 bar, tempo de reação de 11 minutos

Matéria-prima	Grau de Hidrolise (%)	Rendimento (%)	
		AR	ART
Gengibre FP	97,6	4,0	
Gengibre seco/ moído	90,5	7,1	26,9
Bagaço de gengibre	89,3	6,5	21,0
Cúrcuma FP	99,0	6,3	15,0
Cúrcuma seca/ moída	96,9	10,6	26,9
Bagaço de cana	n.q.	n.q.	9,3*

n.q. não quantificado (quantidade insuficiente de amostra no resíduo de reação).

* O valor do rendimento está subestimado porque não foi computado o teor de ART no resíduo de reação (quantidade insuficiente de amostra no resíduo de reação).

A cúrcuma apresentou maiores valores de grau de hidrólise e rendimento (em AR) em relação ao gengibre. O gengibre e a cúrcuma FP tiveram um maior grau de hidrólise em

relação a estes materiais secos/ moídos. Isso pode ser explicado pelo fato de que as interações da água com a matriz sólida no material fresco facilitam a hidrólise, diferentemente do material re-hidratado. Quanto maior o grau de hidrólise, maior a degradação dos açúcares redutores formados, o que explica o menor rendimento em AR para os materiais frescos.

O bagaço de gengibre apresentou um menor grau de hidrólise em relação ao material fresco processado e aproximadamente igual ao do gengibre seco/ moído, enquanto o rendimento em açúcares redutores foi maior que no gengibre fresco processado e ligeiramente menor que no gengibre seco/ moído.

5. Conclusões

No estudo de hidrólise do bagaço de gengibre com tempo de reação constante, o grau de hidrólise foi influenciado pela pressão e temperatura do processo, enquanto que para o rendimento em açúcares redutores somente a temperatura foi estatisticamente significante. Os maiores valores de grau de hidrólise foram obtidos em qualquer pressão para temperaturas acima de 188 °C ou em qualquer temperatura para pressões acima de 220 bar. Os maiores valores de rendimento foram obtidos em temperaturas acima de 188 °C. É possível que tenha ocorrido a degradação dos açúcares redutores formados na região de pressões mais elevadas. Para as perdas do processo, nem a temperatura nem a pressão foram estatisticamente significantes, mostrando que a não quantificação de todos os produtos de reação, como os gases, não comprometeu as demais conclusões deste trabalho.

No estudo cinético da hidrólise do bagaço de gengibre, o grau de hidrólise e o rendimento em açúcares redutores aumentaram com o aumento da temperatura. O pH da solução dos produtos diminuiu com o aumento da temperatura e indicou a formação de grande quantidade de ácidos a 200 °C. Diferentes misturas de oligossacarídeos com diferentes distribuições de massas moleculares foram obtidas, dependendo da temperatura e do tempo de reação, sendo que os valores de dextrose equivalente dos produtos de reação permaneceram numa faixa de 3 a 7% em todos os tempos de reação, nas temperaturas de 176 e 188 °C, e de 17%, no tempo de 5 minutos de reação a 200 °C, caracterizando estes produtos como maltodextrinas, muito usadas nas indústrias de alimentos, farmacêutica, de cosméticos, etc.

A análise da cinética global indicou que a reação de hidrólise do bagaço de gengibre foi considerada como uma reação de primeira ordem com respeito à concentração do amido a 200 °C.

Este estudo de hidrólise englobou um primeiro estudo exploratório do processo de hidrólise do bagaço de ESC, porém podemos adiantar que um processo contínuo de hidrólise pode resultar em maiores rendimentos em açúcares redutores, uma vez que os açúcares formados seriam retirados na zona de reação tão logo fossem formados.

67

6. Sugestões para Trabalhos Futuros

Diante dos resultados apresentados e conclusões sugere-se:

- Continuar trabalhando com hidrólise de biomassas de interesse nacional, como resíduos das agroindústrias de cana-de-açúcar, de suco de laranja, de extração de óleo de soja, de fabricação de vinho, palha de arroz, engaço do cacho de bananas, entre outros, com alto teor de matéria amilácea-celulósica, para a obtenção de oligossacarídeos.
- Fazer testes de hidrólise com sistema contínuo (retirada dos produtos de reação tão logo fossem formados), minimizando assim a degradação dos açúcares formados.
- Usar um sistema de aquecimento rápido do reator, assim como de um resfriamento rápido dos produtos de reação.

7. Referências Bibliográficas

- Albrecht, T and Brunner, G., Biomassa Conversion in Near- and Supercritical Water. 2nd International Meeting on High Chemical Engineering, Hamburg, Germany 2001.
- An, J.; Bagnell, L.; Cableski, T.; Strauss, C.R. and Trainor, R.W. Applications of High-Temperature Aqueous media for Synthetic Organic Reactions Journal of Org. Chem. 1997, 62, 2505-2511.
- Ando, H.; Sakaki T.; Kokusho T.; Shibata M.; Uemura Y.; Hatate Y., Decomposition Behavior of Plant Biomass in Hot-Compressed Water. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2000, 39, 3688-3693.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), **Official Methods of Analysis of AOAC International.** 16th, 3rd rev; edited by Cuniff P.; AOAC International: Gaithersburg, Maryland, 1997.
- Arai, K. and Adschiri, T. Importance of Phase Equilibria for Understanding Supercritical Fluid Environments Fluid. Phase Equilibria 1999, 158-160, 673-684.
- BeMiller, J.N. Acid Hydrolysis and Other Lytic Reactions of Starch in Whistler, R.L.; Bemiller, J.N. and Paschall, E.F. Starch: Chemistry and Technology, Vol.1, Academic Press, London., New York, 1984, pp 153-182., pp 741.
- Benar, P.; Tese de Doutorado Instituto de Química- UNICAMP, Campinas, 1996.
- Bobleter, O. Hydrothermal Degradation of Polymers Derived from Plants. *Prog. Polym. Sci.* **1994**, 19, 797- 841.
- Costa, J.L.M.; Tese de Doutorado Instituto de Química- UNICAMP, Campinas, 1989.
- Demirbas, A.A. Biomass Resource Facilities and Biomass Conversion Processing for Fuels and Chemicals. *Energy Conversion and Management* **2001**, 42, 1357-1378.

- Fleche, G. Chemical Modifications and Degradations of Starch in Beynum, G.M.A. and Roels, J.A. Starch Conversion Technology , Marcel Dekker, Inc., New York, 1985, pp. 362.
- Garrote, G. Domínguez, H., Parajó, J.C. Autohydrolysis of Corncob: Study of Non-Isothermal Operation for Xylooligosaccharides Production. Journal of Food Engineering 2002a, 52, 211-218.
- Garrote, G. Domínguez, H., Parajó, J.C. Interpretation of Deacetylation and Hemicellulose Hydrolysis during Hydrothermal Treatments on the Basis of the Severity Factor. Process Biochemistry 2002b, 37, 1067-1073.
- Garrote, G., Domínguez, H. and Parajó, J.C., Kinetic Modelling of Corncob Autohydrolysis. *Process Biochemistry* **2001**, 36, 571-578.
- Gonçalves, A.R. *Tese de Doutorado* Instituto de Química- UNICAMP, Campinas, 1995.
- Gorbaty, Y.E. and Bondarenko, G.V. The Physical State of Supercritical Fluids. *Journal* of Supercritical Fluids **1998**, 14, 1-8.
- Hauthal, W.H. Advances with Supercritical Fluids [review]. *Chemosphere* **2001**, 43,123-135.
- Holgate, H.R. Meyer, J.C. and Tester, J.W. Glucose Hydrolysis and Oxidation in Supercritical Water *AIChE Journal* **1995**, 41, 637-648.
- Hori, H.; Miura, T.; Hirai, Y.; Fukumura, M.; Nemoto, Y.; Toriizuka, K. and Ida, Y.
 Pharmacognostic Studies on Ginger and Related Drugs Part 1: Five Sulfonated Compounds from Zingiberis rhizome (Shokyo). *Phytochemistry* 2003, 613–617.
- Jacobs, M.B. The Chemical Analysis of Foods and Food Products; Robert Krieger Publishing: New York, NY, 1981, pp 21.

- Jin, F.M.; Kishita, A.; Moriya, T. and Enomoto, H. Kinectics of Oxidation of Food Wastes with H₂O₂ in Supercritical Water. Journal of Supercritical Fluids 2001, 19, 251-262.
- Kabyemela, B.M.; Adschiri, T.; Malaluan, R.M. and Arai, K. Kinetics of Glucose Epimerization and Decomposition in Subcritical and Supercritical Water. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1997a**, 36, 1552-1558.
- Kabyemela, B.M.; Adshiri, T.; Malaluan, R.M. and Arai, K. Degradation Kinetics of Dihydroxyacetone and Glyceraldehyde in Subcritical and Supercritical Water. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1997 b**, 36, 2025-2030.
- Kabyemela, B.M.; Adshiri, T.; Malaluan, R.M.; Arai, K.; Ohzeki, H. Rapid and Selective Conversion of Glucose to Erythrose in Supercritical Water. *Ind. Eng. Chem. Res.* 1997c, 36, 5063-5067.
- Kabyemela, B.M.; Takigawa, M.; Adshiri, T.; Malaluan, R.M. and Arai, K., Mechanism and Kinetics od Cellobiose Decomposition in Sub- and Supercritical Water. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1998**, 37, 357-361.
- Kaylen, M.; Dyne, D.L.V.; Choi, Y.S and Blase, M. Economic Feasibility of Producing Ethanol from Lignocellulosic Feedstocks. *Bioresource Technology* 2000, 72, 19-32.
- Kim, K.H. and Hong, J. Supercritical CO₂ Pretreatment of Lignocellulose Enhances Enzymatic Cellulose Hydrolysis. *Bioresource Technology* **2001**, 77, 139-144.
- Kim, S.B.; Yum, D.M.and Park, S.C., Step-change Variation of Acid Concentration in a Percolation Reactor for Hydrolysis of Hardwood Hemicellulose. *Bioresource Technology* 2000, 72, 289-294.
- Krammer, P and Vogel, H., Hydrolysis of Esters in Subcritical and Supercritical Water. *Journal of Supercritical Fluids* **2000**, 16, 189-206.

- Kritzer, P.; Boukis,N. and Dinjus, E. Factors Controlling Corrosion in High-temperature Aqueous Solutions: a Contribution to the Dissociation and Solubility Data Influencing Corrosion Processes. J. Supercritical Fluids 1999, 15, 205-227.
- Küçuk, M.M. and Demirbas, A., Biomass Conversion Process. *Energy Convers. Mgmt.* 1997, 38, 151-165.
- Maarel, M.J.E.C; Veen, B.; Uitdehaag, J.C.M.; Leemhuis, H. and Dijkhuizen, L., Properties and Applications of Starch-converting Enzymes of the α-amylase Family. *Journal of Biotechnology* 2002, 94, 137–155.
- Marchal, L.M.; Beeftink, H.H. and Tramper, J., Towards a Rational Design of Commercial Maltodextrins. *in Trends in Food Science & Technology* **1999**, 10, 345-355.
- Miller, G.L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry* **1958**, 31, 426- 506.
- Milosavljevic, I. and Suuberg, E.M. Cellulose Thermal Decomposition Kinetics: Global Mass Loss Kinetics. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1995**, 34, 1081-1091.
- Minowa, T.; Fang, Z.; Ogi, T. and Varhegyi, G. Decomposition of Cellulose and Glucose in Hot-Compressed Liquid Water under Catalyst-Free Conditions. *Journal of Chemical Engineering of Japan* **1998**, 31, 1, 131-134.
- Mochidzuki, M., Sakoda, A., Susuki, M. Measurement of the Hydrothermal Reaction of Cellulose using Novel Liquid-phase Thermogravimetry. Termochimica Acta 2000, 348, 69-76.
- Mok, W.S.L. and Antal, M.J.Jr. Uncatalyzed Solvolysis of Whole Biomass Hemicellulose by Hot Compressed Liquid Water. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1992**, 31, 1157-1161.
- Nelson, D.A. and Theander, O. Aqueous High Temperature Transformation of Carbohydrates Relative to Utilization of Biomass. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry 1988, 46, 273-327.

- Nelson, N.A. A photometric Adaptation for Somogyi Method for the Determination of Glucose. *J. Biol. Chem.* **1944**,153, 375-379.
- Oomori, T.; Khajavi, S.H.; Kimura, Y.; Adachi, S. and Matsuno, R. Hydrolysis of Disaccharides containing Glucose Residue in Subcritical Water. *Biochemical Engineering Journal* 2004, 18, 143-147.
- Petenate, A.J. Apostila da disciplina "Planejamento de Experimentos Industriais", 2000, IMECC, UNICAMP, Campinas, SP.
- Pigman, W. and Horton, D. **The Carbohydrates: Chemistry and Biochemistry**, Anthony Herp Ed., 2nd ed., Vol. II, Academic Press, NY, USA, 1970, pp.469.
- Rubio, M.; Tortosa J.F.; Quesada, J. and Gómez, D. Fractionation of Lignocellulosics. Solubilization of Corn Stalk Hemicelluloses by Autohydrolysis in Aqueous Meduium. *Biomass and Bioenergy* 1998, 15, 483-491.
- Saka, S. and Ueno, T. Chemical Conversion of Various Celluloses to Glucose and its Derivatives in Supercritical Water. *Cellulose* **1999**, 6, 177-191.
- Sasaki, M.; Fang, Z.; Fukushima, Y.; Adschiri, T. and Arai, K. Dissolution and Hydrolysis of Cellulose in Subcritical and Supercritical Water. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2000, 39, 2883-2890.
- Sasaki, M.; Kabyemela, B.; Malaluan, R.; Hirose, S.; Takeda, N.; Adshiri, T. and Arai,
 K. Cellulose Hydrolysis in Subcritical and Supercritical Water. *Journal of Supercritical Fluids* 1998, 13, 261-268.
- Savage P.E.; Gopalan, S.; Mizan, T.I.; Martino, C.J. and Brock, E.E. Reactions at Supercritical Conditions: Applications and Fundamentals AIChE Journal 1995, 41, 1723-1778.
- Schuchardt, U. e Ribeiro, M.L. A Indústria Petroquímica no Próximo Século: Como Substituir o Petróleo como Matéria-prima? *Química Nova* **2001**, 24, 247-251.

- Sealock, L.J.Jr.; Elliot, D.C; Baker, E.G. and Butner, R.S. Chemical Processing in High-Pressure Aqueous Environments. 1. Historical Perspective and Continuing Developments. Ind. Eng. Chem. Res. 1993, 32, 1535-1541.
- Shallenberger, R.S. and Birch, G.G. Sugar Chemistry, Cap. 7, The Avi Publishing Company, Inc, 1975, Westport, Connecticut, USA., pp.221.
- Silva, F.T.; Obtenção de Insumos Químicos a partir do Aproveitamento Integral do Bagaço de Cana *Tese de Doutorado* – Instituto de Química- UNICAMP, Campinas, 1995.
- Silva, I.C.E.; Pirólise do Bagaço de Cana e seus Constituintes *Tese de Mestrado* Instituto de Física e Química de São Carlos- USP, São Carlos, 1988.
- Souza, M.F.B.; Separação e Identificação dos Constituintes do Bagaço de Cana e sua Conversão em Insumos Químicos pelo processo "Organosolv" *Tese de Mestrado* – Instituto de Química- UNICAMP, Campinas, 1984.
- Storey, D.M. and Zumbe, A. 1995 Physiology, metabolism and Tolerance of Digestible and Low-digestible Carbohydrates in Handbook of Starch Hydrolysis Products and their Derivatives, Kearsley, M.W. and Dziedzic, S.Z., eds. 178-229, Blackie Academic & Professional, UK.
- Süheyla, K D., Nazlý A. and Akýn C. Some Medicinal Plants as Immunostimulant for Fish. *Journal of Ethnopharmacology* 2003, 88, 99–106.
- Sun, Y. and Cheng, J. Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production:a Review. *Bioresource Technology* 2002, 83, 1-11.
- Taveira M.M.; Koketsu, M.; Gonçalves, S.L.; Duarte, F.R.; Godoy, R.L. & Lopes, D.,
 Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) Brasileiro: Aspectos Gerais, Óleo
 Essencial e Oleoresina. Parte 1 Aspectos Gerais, Óleo essencial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 1997 a, 17 (1), 64-69.
- Taveira M.M.; Koketsu, M.; Gonçalves, S.L.;Duarte, F.R.; Cornejo, F.E.P. & Marques,L.M.R., Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) Brasileiro: Aspectos Gerais, Óleo

Essencial e Oleoresina. Parte 2 – Secagem, Óleo Essencial e Oleoresina. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **1997 b**, 132-136.

- Thompson, D.R. and Grethlein, H.E. Design and Evaluation of a Plug Flow Reactor for Acid Hydrolysis f Cellulose. *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* **1979**, 3, 166-169.
- Thomson, M.; Qattan K.K.A.; Sawan S.M.A.; Alnaqeeb M.A.; Khan I. and Ali M. The Use of Ginger (Zingiber officinale Rosc.) as a Potential Anti-inflammatory and Antithrombotic Agent. *Prostaglandins,Leukotrienes and Essential FattyAcids* 2002, 67, 475-478.
- Whistler, R.L. and BeMiller, J.N. Carbohydrate Chemistry for Food Scientists, Cap.
 6, Starch, American Society of Cereal Chemistry, Inc., 1999, Eagan Press, St Paul, Minnesota, USA. pp. 241.
- Whistler, R.L.; Bemiller, J.N. and Paschall, E.F. **Starch: Chemistry and Technology**, Vol.1, Academic Press, London., New York, 1984, pp 153-182., pp 741.
- Yan, Y.; Li, T.; Ren, Z.R. and Li, G. A Study on Catalytic Hydrolysis of Peat. Bioresource Technology 1996, 57, 269-273.
- Zancan, K.C.; Marques, M.O.M; Petenate, A. J.; Meireles, M.A.A. Extraction of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Oleoresin with CO₂ and Co-solvents: a Study of the Antioxidant Action of the Extracts. *Journal of Supercritical Fluids* 2002, 24, 57-76.
- Zheng, Y.; Lin, H.M.; Wen, J.; Cao, N.; Yu, X. and Tsao, G.T. Supercritical Carbon Dioxide Explosion as a Pretreatment for Cellulose Hydrolysis. *Biotechnology Letters* 1995, 17, 845- 850.

Anexo A

Hydrolysis of Ginger Bagasse Starch in Subcritical Water and Carbon Dioxide

SILVÂNIA R. M. MORESCHI, ADEMIR J. PETENATE AND M. ANGELA A. MEIRELES

AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY

Hydrolysis of Ginger Bagasse Starch in Subcritical Water and Carbon Dioxide

SILVÂNIA R. M. MORESCHI,[†] Ademir J. Petenate,[‡] and M. Angela A. Meireles^{*,†}

LASEFI-DEA/FEA (College of Food Engineering), UNICAMP (State University of Campinas), Caixa Postal 6121, 13083-970 Campinas, SP, Brazil, and DE/IMECC (Department of Statistics), UNICAMP (State University of Campinas), Caixa Postal 6065, 13083-970 Campinas, SP, Brazil

Ginger bagasse from supercritical extraction was hydrolyzed using subcritical water and CO₂ to produce reducing sugars and other low molecular mass substances. Response surface methodology was used to find the best hydrolysis conditions; the degree of hydrolysis and the yield were the two response variables selected for maximization. The kinetic studies of the hydrolysis (97.1% after 15 min of reaction) and higher reducing sugars yield (18.1% after 11 min of reaction) were established for the higher process temperature (200 °C). Different mixtures of oligosaccharides with different molecular mass distributions were obtained, depending on the temperature and on the reaction time. The ginger bagasse hydrolysis was treated as a heterogeneous reaction with a first-order global chemical kinetic, in relation to the starch concentration, which resulted in an activation energy of 180.2 kJ/mol and a preexponential factor of 5.79×10^{17} /s.

KEYWORDS: Ginger bagasse; hydrolysis; starch; subcritical water; supercritical fluids

INTRODUCTION

Extracts from ginger and turmeric are widely used in food processing to impart flavor to a variety of foods because of their volatile oil and/or oleoresin (1). Ginger and turmeric extracts obtained by supercritical fluid extraction (SFE) showed important functional properties such as antioxidant (2, 3), anticancer (3, 4), and antimycobacterial (3) activities. Because of the content of starch in ginger and turmeric bagasses, these residues or biomass can be used as a source of special starches as well as a substrate for hydrolysis reaction to obtain oligosaccharides, glucose, or even smaller molecules, providing hydrolyzed substances with special aroma and flavor characteristics.

The hydrolytic production of glucose is an important step for the conversion of these residues, because glucose, besides being a substrate for ethanol production, is also a raw material for important products such as sorbitol, vitamin C, and furfural, which in turn is a raw material for production of polyamides, polyesters, and epoxies.

The starch macromolecule is formed by two polysaccharides: amylose and amylopectin. The majority of the starches consist of approximately 75% of semicrystalline amylopectin and 25% of the amorphous amylose. Amylose is a linear chain polymer consisting of several hundred glucose units connected by α -D-(1 \rightarrow 4) linkages. Amylopectin contains, on the other hand, many oligometric units of D-glucose joined by α -D-(1 \rightarrow 4) and α -D-(1 \rightarrow 6) linkages. The degree of starch acid hydrolysis depends on (i) the effect of the acid to rupture the starch granule; (ii) the degree of hydrolysis of each starch component (amylose and amylopectin) that varies with the starch nature; and (iii) the degree of hydrolysis of the polysaccharide itself, which is a function of the physical distribution of the amylose and amylopectin structures. Acid hydrolysis of starch produces D-glucose and D-glucose degradation products such as 5-hydroxymethyl furfural, levulinic acid, and formic acid; 5-hydroxymethyl furfural is the precursor of the last two substances (5). Partial starch hydrolysis produces maltdextrins [dextrose equivalence (DE) < 20], nutritive saccharide polymers, nonsweet substances used as thickening agents, texturizers, auxiliary substances for dry powders, fat substitutes, imitation cheese, sauces, freezing and film production control agents, substances to prevent crystallization, and nutritional additives.

Many processes have been studied to produce these mixture and monomeric sugars. The enzymatic process yields many specific products, but it can be slow and last from 3 to 120 h (6-8), besides involving the costs of obtaining the enzymes and purifying the product. Because of the presence of the starch and of multiple substrates in the cell walls of the vegetables, the enzymatic process for the biomass hydrolysis requires mixtures of enzymes, thus increasing its cost (9). Nonetheless, the enzymatic process is widely used in industry today. On the other hand, the hydrolysis with inorganic acids has a shorter reaction time, but it causes corrosion, and the recovery of the

^{*} Author to whom correspondence should be addressed (telephone 55 19 3788 4033; fax 55 19 3788 4027; e-mail meireles@fea.unicamp.br).

[†] LASEFI-DEA/FEA.

[‡] DE/IMECC.

Table 1.	Identification	of the	Ginger	Bagasse	Used in	n the	Hydrolysis	Studies
----------	----------------	--------	--------	---------	---------	-------	------------	---------

ginger bagasse code	SFE operating conditions	SFE solvent (% cosolvent, v/v)	frozen storage time from SFE tests to the hydrolysis tests (months)
KB	250 bar and 25 °C	CO ₂ + ethanol (1.17%)	16
KC	250 bar and 25 °C	CO_2 + ethanol (1.5%)	22
KD	250 bar and 35 °C	$CO_2 + ethanol(1.5\%)$	31
	250 bar and 35 °C	CO_2 + isopropyl alcohol (1.17%)	31
	250 bar and 25 °C	CO ₂ + isopropyl alcohol (1.17%)	31

^a SFE performed by Zancan et al. (2) using a CO₂ flow rate of 10⁻⁵ kg/s with equal amounts of particles of mesh sizes 16, 22, 32, and 48.

acids is difficult. The hydrolysis with organic solvents is as slow as the enzymatic process, requiring huge amounts of solvents and raising pollution issues.

For cellulosic biomass, one of the most promising treatments is the hydrothermal treatment, also known as hydrothermolysis, which uses subcritical and supercritical water as the reaction medium (10). Using water satisfies today's pursuit for "green" transformation processes, i.e., beneficial to the environment. The biomass conversion using water near its critical point is faster, if compared with other methods such as biodegradation with microorganisms (11). As for the product distribution, a high level of selectivity can be achieved, by adjusting the temperature and the pressure of the process. Different operating conditions cause changes in the water properties (density, ionic product, and dielectric constant), providing different decomposition pathways. Water, near its critical point (374 °C and 221 bar), has properties such as density and dielectric constants that are similar to those of nonpolar organic solvents at room temperature. This makes it a feasible solvent in reactions, with the additional advantage of dispensing with the steps of neutralization and solvent recovery. The temperature increase causes an increase in the dissociation constant, making water a strong acid or a strong base. In such chemical reactions, water plays catalyzing, reagent, and solvent roles (12).

The approximate composition of ginger is 30-60% starch, 6-14% raw protein, 3-10% fibers, and 1.7-3% essential oil (1). Thus, after the extraction of the oleoresin from ginger, the ginger bagasse contains 40-55% starch (dry mass) and cellulose. As mentioned before, this bagasse is a source of a special starch and can be used as a substrate for hydrolysis reaction to obtain hydrolyzed substances with special aroma and flavor characteristics. Furthermore, if the ginger residue came from a SFE process, then, the hydrolysis process can benefit from the modifications imparted to the starchy and cellulosic structures by the SFE step (13-16). In the present work, subcritical water in the presence of CO₂ was used to hydrolyze ginger bagasse after the solid matrix was subjected to SFE.

MATERIALS AND METHODS

Raw Material Identification and Characterization. The ginger bagasses used on this work came from previous work done in our laboratory by Zancan et al. (2); the ginger bagasses were stored in plastic bags at -10 °C immediately after the SFE process. The hydrolysis experiments were performed using five lots of ginger bagasses from different SFE assays, and the bagasse designated as KD resulted from the mixture of three distinct lots, as indicated in **Table 1**. The bagasses were characterized with respect to humidity (*17*) and reducing sugars (*18*), while other constituents were characterized by standard AOAC methods (*19*): starch content (method no. 32.2.05), lipids (method no. 32.1.22), and fiber (method no. 4.6.01).

Experimental Planning. The surface response methodology was used to establish the temperature and pressure conditions to maximize

the starch hydrolysis without producing excessive degradation products. On the basis of the preliminary assays, the first set of experiments was made using a factorial design with two levels of pressure (100 and 200 bar), two levels of temperature (140 and 180 °C), and a central point (150 bar and 160 °C); the experiments were made in triplicate and quintuplicate at the central point. The assays at the axial points were made at 132 and 188 °C and at 80 and 220 bar in triplicate. These experiments were made using bagasses KB and KC (**Table 1**).

Experimental Procedure. Search for the Best Operational Conditions. The hydrolysis tests were made using a model 7071 Speed SFE-NP unit (Applied Separations, Inc., Allentown, PA) and a 5 mL extractor vessel (reactor) (Thar Designs, Inc., Pittsburgh, PA). The SFE unit was operated using the same procedure used for any standard extraction assay (3). The reactor was filled with a mixture of ginger bagasse and distilled water (3:7) and assembled in the SFE unit oven. The hydrolysis assays were done using three steps as follows: (i) Keeping the inlet and outlet CO₂ valves closed, the oven heating system was turned on. The time to heat up the system varied accordingly with the assay temperature: at the lower temperature (132 °C) it took 36 min, while at the higher temperature (188 °C) 45 min was required; thus, the average heating time was 39 ± 2 min. (ii) After the desired temperature was reached, simultaneously the CO₂ pump was turned on, the inlet CO₂ valve was opened, and 99.0% purity CO₂ (Gama, S. S. ONU 1013, Campinas, Brazil) was admitted into the system. (iii) Once the operating pressure was reached, the reactor was kept still at the desired temperature and pressure for 15 min (static period or reaction time). Afterward, the outlet CO₂ valve was opened and the reaction products were withdrawn from the reactor using a CO₂ flow rate of $7.48 \pm 0.05 \times 10^{-5}$ kg/s. To speed up the cooling process, that is, to avoid further uncontrolled hydrolysis, the oven door was opened and an external fan helped cool the reactor vessel. The process losses, that is, the mass loss of the hydrolysis process due to leakages and dragging of liquid and gaseous products by the CO2 stream, were kept below 10%. In this case, if the mass balance indicated losses above 10%, the experiment was rejected.

Kinetic Tests. The hydrolysis kinetic tests were performed with bagasse KD (**Table 1**) at 150 bar and at 176, 188, and 200 °C, using the experimental procedure previously described and keeping constant the ratios between bagasse and water in the reactor, as well as the CO_2 flow. The following static periods or reaction times were evaluated: 1, 5, 7, 9, 11, and 15 min. The starch hydrolysis kinetics for times below 1 min was not studied, due to experimental difficulties.

Characterization of the Reaction Products and Residues. The reaction residues were characterized with respect to the amount of starch and of reducing sugars (18) and with respect to the humidity (AOAC method no. 4.1.03) (19). The reaction products were characterized with respect to the quantities of reducing sugars (18), pH (AOAC method no. 32.1.20) (19), proportion of total solids (AOAC method no. 33.2.09) (19), and molecular mass distribution, using gel permeation chromatography (GPC). The hydrolysis products at 188 °C were analyzed using high performance liquid chromatography (HPLC). The yields of acids and other sugar degradation products (furfural and hydroxymethylfurfural) were not evaluated. In addition, the content of total sugars was not evaluated because the sample size was insufficient.

GPC. To determine the molecular mass of the reaction products, as well as its molecular mass distribution, a model 9095 high-performance liquid chromatographer was used (Varian Associates Inc., Sunnyvale,

CA), with a model R14 refraction index detector (Varian Associates Inc.) and three columns (G3000 PW, 10 μ m, 30 cm \times 0.75 cm ID; G4000 PW, 17 μ m, 30 cm \times 0.75 cm ID; and G6000 PW, 17 μ m, 30 $cm \times 0.75 cm$ ID; Varian Associates Inc., Micropak series) connected in series and one precolumn (12 $\mu m,\,7.5$ cm \times 0.75 cm ID, Tosoh Corporation, Tokyo, Japan). Ultrapure water (Millipore Corporation, Milli-Q Plus, Bedford, MA), degasified at 1.0 mL/min, was used as the mobile phase. Dextran standards (DXT11 K, DXT 43 K, DXT 79 K, DXT 165 K, DXT 685 K, DXT 1750 K, and DXT 5000 K) were used to construct the standard curve for molecular masses in the range of 12-5000 kDa. The data were processed using the software Millennium Chromatography Manager v 2.1 (Waters Corporation, Milford, MA). The sample molecular mass distribution was obtained using the calibration curve. The dextran standards were dissolved in ultrapure water at the concentration of 0.4 (w/v) and were left for 16-20 h before being injected. This period is necessary to allow the polymer chain to extend to its solvation conformation, particularly for standards with a molecular mass above 200 000 Da.

HPLC. The reaction products for the assays at 188 °C were analyzed using a model LC-10 high-performance liquid chromatograph (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), with a column 30 cm \times 0.79 cm ID Shim-pack SCR-101P (Shimadzu Corporation) at 80 °C, using ultrapure water at 0.6 mL/min and using a RID-6A refractive index detector (Shimadzu Corporation).

Standards for glucose, fructose, saccharose, raffinose, galactose, xylose, and erythrose were prepared as possible hydrolysis products from the substrate. The standards were prepared at 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, and 2% (w/v) with ultrapure water and filtered through membranes 0.22 μ m (Millipore Corporation).

Calculation Procedure. The dry ginger bagasse was the basis of the mass balance for the process. The process losses were evaluated using the following equation:

$$\% L = \left[1 - \frac{(m_{\rm P} + m_{\rm W})}{(m_{\rm B} + m_{\rm A})}\right] \times 100 \tag{1}$$

where m_A is the mass of water in the feed, m_B is the mass of bagasse in the feed, m_P is the mass of products, and m_w is the mass of reaction residue or unreacted material.

The reaction yield (y, wt %) or amount of reducing sugar was calculated as:

$$y = \frac{\mathrm{RS}_{\mathrm{W}} + \mathrm{RS}_{\mathrm{P}}}{\mathrm{St}_{\mathrm{R}}} \times 100 \tag{2}$$

where RS_P is the mass of reducing sugar in the product stream, RS_W is the mass of reducing sugar in the reaction residue, and St_B is the initial mass of starch in the ginger bagasse.

The degree of hydrolysis (X, wt) or the starch conversion was defined as:

$$X = \frac{\mathrm{St}_{\mathrm{B}} - \mathrm{St}_{\mathrm{W}}}{\mathrm{St}_{\mathrm{B}}} \tag{3}$$

where Stw is the mass of starch in the unreacted material.

The residual starch (RSt, wt) was calculated as:

$$RSt = \frac{St_W}{St_B}$$
(4)

Statistical Analysis. An analysis of variance (ANOVA) was done, and a response surface was fitted in order to analyze the influence of temperature and pressure on the hydrolyzed starch content and on the reducing sugar yield; Minitab v 13.1 was used.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The compositions of ginger bagasse used in the hydrolysis reactions are given in **Table 2**. The differences in the proportions of starch, reducing sugars, and humidity in bagasses KB, KC,

 Table 2. Composition of Ginger Bagasse Used in the Hydrolysis

 Reactions^a

	Q	ginger bagass	se	
dry basis (%)	KB	KC	KD	ginger before SFE
starch	56.5	48.5	40.1	44
reducing augar	6.1	5.2	5.1	5
humidity	19	16	14.6	12
fiber	3	NQ	NQ	5
ash	5	NQ	NQ	6
lipid	1	NQ	NQ	2
protein	12	NQ	NQ	10

^a NQ, not quantified.

Table 3. Degree of Hydrolysis (X) and Hydrolysis Yields (y) for a Reaction Time of 15 min

	T(°C)	P (bar)	X (%)	y (%)
corner or factorial points	140	100 200	$\begin{array}{c} 55\pm12\\ 67\pm5 \end{array}$	4.6 ± 0.4 5.1 ± 0.1
	180	100 200	$66 \pm 2 \\ 70.8 \pm 0.1$	$4.6 \pm 0.1 \\ 4.3 \pm 0.5$
central point axial or star points	160 132 160 160 188	150 150 80 220 150	47 ± 7 40 ± 2 41 ± 6 54 ± 5 61 ± 10	$\begin{array}{c} 3.4 \pm 0.3 \\ 4.9 \pm 0.4 \\ 2.9 \pm 0.1 \\ 3.1 \pm 0.2 \\ 8 \pm 2 \end{array}$

and KD may be because these bagasses are SFE residues obtained with different cosolvents, which resulted in differences in the composition of the extracted oleoresins (2). As discussed by Rodrigues et al. (20), the starchy and cellulosic structures that form ginger do not interact with CO_2 during the SFE process; nonetheless, the two cosolvents used by Zancan et al. (2) interact with these structures, and consequently, differences in the bagasse composition were observed.

The reaction products obtained for the static period or reaction time of 15 min had a yellow-brown color with a mixed caramel and coffee aroma, which may characterize the Maillard reaction. Color and aroma intensified as the temperature increased. The ANOVA obtained from the data on Table 3 showed that for the degree of hydrolysis (X) the *R*-square for the fitted model was 50.1%. Both factors (temperature and pressure) were statistically significant. As for the reducing sugar amount (y), only the temperature was statistically significant (for both coefficients, linear and quadratic, the *p*-value was less than 0.05), and the *R*-square for the fitted model was 68.8%. Higher values of the degree of hydrolysis can be obtained at any pressure for temperatures up to 188 °C or at any temperature for pressures up to 220 bar. The best values of the yield were obtained at temperatures above 188 °C. The pressure was not relevant in the tested interval. On the basis of these results, the kinetic assays were done at 150 bar and 176, 188, and 200 °C.

The kinetic studies showed that the degree of hydrolysis increased with temperature (**Figure 1**). This behavior results from the decrease in the density and in the dielectric constant of water as the temperature increases, thus facilitating the water dissociation and accelerating the hydrolysis process (21-26). The water dissociation as the temperature increases can be verified by noting that the reaction medium pH (**Figure 2**) decreased as the temperature increased. The pH of the product solutions indicated that large amounts of acids were formed at 200 °C. At 188 and 200 °C, the starch hydrolysis was fast during the first minute of reaction and then proceeded at a slower rate, and the reaction was not complete even after 15 min. Assuming a two step reaction sequence, in the first step (reaction times of



Figure 1. Degree of hydrolysis of the ginger bagasse starch at 150 bar and 176 (\blacktriangle), 188 (\blacksquare), and 200 (\odot) °C.



Figure 2. Reaction medium pH variation on ginger bagasse hydrolysis at 150 bar and 176 (\blacktriangle), 188 (\blacksquare), and 200 (\bigcirc) °C.

less than 1 min), intermediate size compounds that are difficult to hydrolyze (27) are formed, and reversion reactions can occur, since the product remains in the reaction medium and the amount of water becomes a limiting factor for the occurrence of hydrolysis. Larger liquid-to-solid ratios could be favorable to the increase in reducing sugar yields because a low concentration of sugars in the reaction medium reduces the rate of decomposition (28). In the second reaction step, after the first minute of reaction, the intermediate products were hydrolyzed to lower molecular weight at a slower degree of hydrolysis. At 176 °C, the starch hydrolysis was much slower, when compared with the reaction at 188 and 200 °C. The maximum degree of hydrolysis obtained at 176 °C was 46.1% in 11 min, and at 188 and 200 °C, the maximum degrees of hydrolysis obtained were 76.6 and 97.1%, respectively, but for 15 min of reaction.

The process yield for reducing sugars increased with temperature (**Figure 3**), and the DE of the process ranged from 3 to 7% at 176 °C (maximum value at 7 min of reaction), from 5 to 7% at 188 °C (maximum value at 5 min of reaction time), and from 17 to 29% at 200 °C (maximum value at 15 min). The reaction rate of reducing sugars was low at 176 °C. At 188 and 200 °C, the maximum yields of reducing sugars were 14 and 18%, respectively, in 11 min. The decrease in the reducing sugars yield at higher reaction times can be explained due to



Figure 3. Yield on ginger bagasse hydrolysis at 150 bar and 176 (\blacktriangle), 188 (\blacksquare), and 200 (\blacklozenge) °C.

Table 4. Reaction Products Characterization by HPLC at 188 $^{\circ}\mathrm{C}$ and 150 $\mathrm{bar}^{\mathrm{a}}$

reaction time (min)	1	3	5	7	9	11	15
compound			concer	ntration (N	vt/v %)		
raffinose saccharose glucose xvlose	2.58 0.57	2.18 1.29	2.99	0.20 0.03	0.17	0.15	0.10
galactose fructose	ND 0.70	ND 0.62	ND 0.69	ND 0.60	ND 0.65	ND 0.57	ND 0.64

^a ND, not determined.

the degradation of these sugars. An et al. (21) concluded that high temperatures are necessary for breaking the glycoside bonds, but monosaccharides and oligosaccharides are more susceptible to decomposition at milder conditions. The temperature increase favored both the starch hydrolysis and the reducing sugars production. Even higher sugar yields could be obtained if the sugars formed were withdrawn from the reaction medium as soon as they were produced, thus reducing their degradation.

Characterization of the Reaction Products by Chromatography. Products with a molecular mass in the range of $10\ 000-100\ 000$ Da represented 30-40% of the total at 176 and 188 °C, respectively, whereas at 200 °C they represented only 2.5–10%. Products with a molecular mass ranging from 160 to 8400 Da represented 60–75% of the total mass at 176 and 188 °C, respectively. At 200 °C, the molecular mass ranged from 50 to 53% of the total mass. At 200 °C, there was an increase in the generation of smaller oligomers, which reached 100% of the product after 15 min of reaction.

Reaction products at 188 °C and 150 bar were characterized using liquid chromatography (**Table 4**). When galactose was injected together with the other standards, there was a peak merge with that of xylose, so the quantification using this standard was not possible. We noted the presence of raffinose (a trisaccharide) in up to 5 min of reaction time; thereafter, it appeared to be converted into sucrose and glucose. Fructose appeared throughout this kinetic study, which may be the result of the glucose epimerization by the opening of the glucose ring (29). The absence of glucose confirms its transformation into fructose.



Figure 4. Kinetics of ginger bagasse starch decomposition: $-\ln(1 - X)$ vs time at 150 bar and 176 (\blacktriangle), 188 (\blacksquare), and 200 (\blacklozenge) °C.

The decomposition of ginger bagasse starch in subcritical water is an effective method and potentially attractive. The starch hydrolysis and the production of reducing sugars increased with temperature, but the temperature increase also favored the degradation of the reducing sugars while they were being formed. The decomposition happened quickly and in two stages. At 200 °C, the starch was almost completely decomposed after 15 min of reaction, yielding 18% of reducing sugars after 11 min.

Characterization of the Reaction Kinetics. Considering that a hydrolysis mechanism was the major reaction for the starch decomposition at the conditions of this study, the plot of $-\ln(1 - X)$ vs time (**Figure 4**) for the second reaction step (times larger than 1 min) at 200 °C gives a first-order reaction kinetics ($R^2 = 0.9525$). However, at 176 and 188 °C, a first-order equation did not fit the curve well ($R^2 = 0.5297$ and $R^2 = 0.2883$).

Considering starch hydrolysis as having a first-order kinetic dependence, the global expression for the starch decomposition reaction can be written as:

$$\frac{\mathrm{d}X_{\mathrm{H}}}{\mathrm{d}t} = k_{\mathrm{H}}(1 - X_{\mathrm{H}}) \tag{5}$$

The Arrhenius equation was applied to determine the reaction constant as:

$$k_{\rm H} = A_{\rm H} \exp\left(-\frac{(E_{\rm a})_{\rm H}}{RT}\right) \tag{6}$$

where E_a is the apparent activation energy (kJ/mol); A_H is the preexponential factor (s⁻¹); R is the gas constant, 8.314 (J/mol K); and T is the temperature (K). Fitting the data of **Figure 4** to eq 5 and using eq 6, one obtains $(E_a)_H = 185.1$ kJ/mol and $A_H = 5.79 \times 10^{17}$ /s. The value of the apparent activation energy obtained in the present work agrees well with values reported in the literature (30-35). On the other hand, the value of the preexponential factor of this work is close to the values obtained for hydrothermolysis of cellulose (33) and thermal decomposition of cellulose (35).

This work allowed a first exploratory study of the hydrolysis of ginger bagasse using supercritical fluids in a standard SFE unit. Operating the SFE unit in a continuous fashion, the hydrolysis of bagasse starch would most certainly give higher yields in reducing sugars, because, in this situation, the hydrolysis products would be withdrawn from the reaction vessel as soon as they are formed, thus minimizing their degradation. A lower solid-to-water ratio (wt %) might favor an increase in the degree of hydrolysis. Ginger bagasse starch hydrolysis could be considered as a first-order reaction with respect to the starch concentration at 200 °C.

LITERATURE CITED

- Govindarajan, V. S. Ginger-Chemistry, Technology, and Quality Evaluation: Part I. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 1982, 17, 1–96.
- (2) Zancan, K. C.; Marques, M. O. M.; Petenate, A. J.; Meireles, M. A. A. Extraction of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Oleoresin with CO₂ and Cosolvents: a Study of the Antioxidant Action of the Extracts. J. Supercrit. Fluid **2002**, 24, 57–76.
- (3) Leal, P. F.; Braga, M. E. M.; Sato, D. N.; Carvalho, J. E.; Marques, M. O. M.; Meireles, M. A. A. Functional Properties of Spice Extracts Obtained via Supercritical Fluid extraction. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2520–2525.
- (4) Braga, M. E. M.; Leal, P. F.; Carvalho, J. E.; Meireles, M. A. A. Comparison of yield, composition, and antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) extracts obtained using various techniques. J. Agric. Food Chem. 2003, 51, 6604–6611.
- (5) Theander, O.; Nelson, D. A. Aqueous, high-temperature transformation of carbohydrate relative to utilization of biomass. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1988**, *46*, 273–326.
- (6) Cong, L.; Kaul, R.; Dissing, U.; Mattiasson, B. A model study on eudragit and polyethyleneimine as soluble carriers of alpha amylase for repeated hydrolysis of starch. *J. Biotechnol.* **1995**, *42*, 75–84.
- (7) Crabb, W. D.; Mitchinson, C. Enzymes involved in the processing of starch to sugars. *Trends Biotechnol.* **1997**, *15*, 349–352.
- (8) Yook, C.; Robyt, J. F. Reactions of alpha amylases with starch granules in aqueous suspension giving products in solution and in a minimum amount of water giving products inside the granule. *Carbohydr. Res.* 2002, *337*, 1113–1117.
- (9) Ward, O. P.; Moo-Young, M. Cited by Grohmann, K.; Bothast, R. J. Saccharification of corn fibre by combined treatment with dilute sulphuric acid and enzymes. *Process. Biochem.* **1997**, *32*, 405–415.
- (10) Mochidzuki, K.; Sakoda, A.; Susuki, M. Measurement of the hydrothermal reaction of cellulose using novel liquid-phase thermogravimetry. *Thermochim. Acta* **2000**, *348*, 69–76.
- (11) Mochidzuki, K.; Sakoda, A.; Susuki, M. Liquid-phase thermogravimetric measurements of reactions kinetics of the conversion of biomass wastes in pressurized hot water: a kinetic study. *Adv. Environ. Res.* 2003, *7*, 421–428.
- (12) Katritzky, A. R.; Allin, S. M. Aquathermolysis: Reactions of organic compounds with superheated water. Acc. Chem. Res. 1996, 29, 399–406.
- (13) Kim, K. H.; Hong, J. Supercritical CO₂ Pretreatment of Lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis. *Bioresour. Technol.* 2001, 77, 139–144.
- (14) Weil, J.; Westgate, P.; Kohlmann, K.; Ladisch, M. R. Cellulose pretreatment of lignocellulose substrates. *Enzyme Microbiol. Technol.* **1994**, *16*, 1002–1004.
- (15) Zheng, Y.; Lin, H. M.; Wen, J.; Cao, N.; Yu, X.; Tsao, G. T. Supercritical carbon dioxide explosion as a pretreatment for cellulose hydrolysis. *Biotechnol. Lett.* **1995**, *17*, 845–850.
- (16) Zheng, Y.; Lin, H. M.; Tsao, G. T. Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion. *Biotechnol. Prog.* 1998, *14*, 890–896.
- (17) Jacobs, M. B. The Chemical Analysis of Foods and Food Products; Robert Krieger Publishing: New York, 1981; p 21.
- (18) Nelson, N. A. A photometric adaptation for Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. 1944, 153, 375– 379.

- (19) Association of Official Analytical Chemists (AOAC). In *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 16th ed., 3rd revision; Cuniff, P., Ed.; AOAC International: Gaithersburg, Maryland, 1997.
- (20) Rodrigues, V. M.; Sousa, E. M. B. D.; Monteiro, A. R.; Chiavone-Filho, O.; Marques, M. O. M.; Meireles, M. A. A. Determination of the solubility of extracts from vegetable raw material in pressurized CO2: a pseudo-ternary mixture formed by cellulosic structure + solute + solvent. *J. Supercrit. Fluids* 2002, 22, 21–36.
- (21) An, J.; Bagnell, L.; Cableski, T.; Strauss, C. R.; Trainor, R. W. Applications of high-temperature aqueous media for synthetic organic reactions. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2505–2511.
- (22) Kritzer, P.; Boukis, N.; Dinjus, E. Factors controlling corrosion in high-temperature aqueous solutions: a contribution to the dissociation and solubility data influencing corrosion processes. *J. Supercrit. Fluids* **1999**, *15*, 205–227.
- (23) Savage, P. E.; Gopalan, S.; Mizan, T. I.; Martino, C. J.; Brock, E. E. Reactions at supercritical conditions: applications and fundamentals. *AIChE J.* **1995**, *41*, 1723–1778.
- (24) Krammer, P.; Vogel, H. Hydrolysis of esters in subcritical and supercritical water. J. Supercrit. Fluids 2000, 16, 189–206.
- (25) Arai, K.; Adschiri, T. Importance of phase equilibria for understanding supercritical fluid environments. *Fluid Phase Equilib.* **1999**, 158–160, 673–684.
- (26) Sealock, L. J., Jr.; Elliot, D. C.; Baker, E. G.; Butner, R. S. Chemical processing in high-pressure aqueous environments. 1. Historical Perspective and Continuing Developments. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1993**, *32*, 1535–1541.
- (27) Jin, F. M.; Kishita, A.; Moriya, T.; Enomoto, H. Kinectics of oxidation of food wastes with H₂O₂ in supercritical water. J. Supercrit. Fluids 2001, 19, 251–262.

- (28) Yan, Y.; Li, T.; Ren, Z. R.; Li, G. A Study on catalytic hydrolysis of peat. *Bioresour. Technol.* **1996**, *57*, 269–273.
- (29) Kabyemela, B. M.; Adschiri, T.; Malaluan, R. M.; Arai, K. Kinetics of glucose epimerization and decomposition in subcritical and supercritical water. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1997**, *36*, 1552–1558.
- (30) Rubio, M.; Tortoga, J. F.; Quesada, J.; Gómez, D. Fractionation of lignocellulosics. solubilization of corn stalk hemicelluloses by autohydrolysis in aqueous medium. *Biomass Bioenergy* 1998, 15, 483–491.
- (31) Garrote, G.; Domínguez, H.; Parajó, J. C. Autohydrolysis of corncob: study of nonisothermal operation for xylooligosaccharides production. *J. Food Eng.* 2002, *52*, 211–218.
- (32) Bobleter, O. Hydrothermal degradation of polymer derived from plants. *Prog. Polym. Sci.* 1994, 19, 797–841.
- (33) Mochidzuki, M.; Sakoda, A.; Susuki, M. Measurement of the hydrothermal reaction of cellulose using novel liquid-phase thermogravimetry. *Termochim. Acta* 2000, 348, 69–76.
- (34) Garrote, G.; Domínguez, H.; Parajó, J. C. Interpretation of deacetylation and hemicellulose hydrolysis during hydrothermal treatments on the basis of the severity factor. *Process Biochem.* 2002, *37*, 1067–1073.
- (35) Milosavljevic, I.; Suuberg, E. M. Cellulose thermal decomposition kinetics: global mass loss kinetics. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1995**, *34*, 1081–1091.

Received for review November 16, 2003. Revised manuscript received February 1, 2004. Accepted February 2, 2004. This work was supported by FAPESP (99/01962). S.R.M.M. thanks FAPESP (99/12868-6) for the Ph.D. assistantship.

JF035347A

Anexo B

Testes de Hidrólise com Tempo de Reação Constante

Planejamento Experimental

Os experimentos foram planejados para se obter um modelo quadrático consistindo de 2² experimentos mais os pontos axiais com cinco repetições no ponto central, totalizando cinco diferentes níveis. As superfícies foram então construídas utilizando o modelo quadrático para as variáveis estatisticamente significativas. O software Statistica (Statsoft, v. 5.0) foi utilizado para analisar os resultados através de regressão múltipla não-linear. A Tabela B.1 apresenta as variáveis codificadas utilizadas no estudo.

 Tabela. B.1 - Experimentos de Hidrólise: Fatorial Completo 2² com Ponto Central

T (°C)	P (bar)	Variável Codificada				
		Х	У			
140	100	-1	-1			
140	200	-1	1			
160	150	0	0			
160	150	0	0			
180	100	1	-1			
180	200	1	1			

Retas para as Variáveis:

$$X = f (T)$$

$$X' = -1 T = 140 -1 = 140 a + b$$

$$X' = 0 T = 160 0 = 160 a + b$$

$$-1 = 140 a - 160 a a = \frac{1}{20}$$

$$Y' = f (P)$$

$$Y' = -1 P = 100 -1 = 100 a' + b'$$

$$Y' = 0 P = 150 0 = 150 a' + b'$$

$$-1 = 100 a' - 150 a' a' = \frac{1}{50}$$

b = -160 a $b = -8 \qquad \Longrightarrow \qquad X' = \frac{T}{20} - 8$ b' = -150 a' $b = -3 \qquad \Longrightarrow \qquad Y' = \frac{P}{20} - 3$

$$= -3 \qquad \Longrightarrow \qquad Y' = \frac{P}{50} - 3$$

Tabela. B.2 - Pontos Axiais

X'	Y'
0	$-\sqrt{2}$
$-\sqrt{2}$	0
0	$+\sqrt{2}$
$+\sqrt{2}$	0

$\int X' = 0$	$0 = \frac{T}{20} - 8 \qquad T = 1$	160	
$\begin{cases} X' = -\sqrt{2} \end{cases}$	$-\sqrt{2} = \frac{T}{20} - 8$	<i>T</i> = 6,5858	$T = 131,72 \cong 132^{\circ}C$
$X' = +\sqrt{2}$	$\sqrt{2} = \frac{T}{20} - 8$	<i>T</i> = 9,414	$T = 188, 28 \cong 188^{\circ}C$
$\int Y' = 0$	$0 = \frac{P}{50} - 3 \qquad P = 1$	50	
$\begin{cases} X' = -\sqrt{2} \end{cases}$	$-\sqrt{2} = \frac{P}{50} - 3$	<i>P</i> = 1,5858	$P = 79,29 \cong 80bar$
$X' = +\sqrt{2}$	$\sqrt{2} = \frac{P}{50} - 3$	<i>P</i> = 4,4142	$P = 220,71 \cong 220 bar$

Grau de Hidrólise e Rendimento do processo

A Tabela B.3 mostra os valores de grau de hidrólise e rendimento usados para o estudo de hidrólise com tempo de reação constante usando a metodologia de superfície de respostas.

ia Subtruita e C					
T (°C)	P (bar)	X (%)	у (%)		
140	100	55 ± 12	$4,6 \pm 0,4$		
	200	67 ± 5	$5,1 \pm 0,1$		
180	100	66 ± 2	$4,6 \pm 0,1$		
	200	$70,8\pm0,1$	$4,3 \pm 0,5$		
160	150	47 ± 7	$3,4 \pm 0,3$		
132	150	40 ± 2	$4,9\pm0,4$		
188	150	61 ± 10	8 ± 2		
160	80	41 ± 6	$2,9 \pm 0,1$		
160	220	54 ± 5	$3,1 \pm 0,2$		

Tabela B.3 - Grau de Hidrólise e Rendimento do Processo de Hidrólise do Bagaço de Gengibreem Água Subcrítica e CO_2
Análise de Variância

A seguir são mostrados os valores obtidos na análise de variância nos ensaios de tempo de reação constante para o grau de hidrólise, rendimento em açúcares redutores e perdas do processo.

• Grau de Hidrólise

Hidrol=234,162-3.135T+0,367P+0,013T²-0,004T+0,002P²

Predicted value at solution: 38,01901 (Solution: minimum)

Tabela B.4 – Valores Críticos da Variável Resposta Grau de Hidrólise (Hidrol)

Fator	Valor Crítico
Т	133,8939
Р	74,8804
	,

ANOVA; Var.: HIDROL; $R^2 = 0.501$;

MS Residual = 104,1177

Tabela B.5 – Análise de Variância da Variável Resposta Grau de Hidrólise (Hidrol)

		SS	df	MS	F	р
(1)T	(L)	1111.648	1	1111.648	10.67684	.003260
Т	(Q)	358.838	1	358.838	3.44647	.075705
(2)P	(L)	757.304	1	757.304	7.27354	.012594
Р	(Q)	194.254	1	194.254	1.86571	.184631
1L b	y 2L	237.630	1	237.630	2.28232	.143911
Er	ror	2498.824	24	104.118		
Tota	al SS	5007.675	29			

• Rendimento

Y=89,503-1,157T+0,061P+0,004T²-1,833e-4TP-1,036e-4P²

Predicted value at solution: 3,42272 (Solution: saddlepoint)

Tabela B.6 – Valores Críticos da Variável Resposta Rendimento (y)

Fator	Valores Criíticos
Т	157,1095
Р	157,0248

ANOVA; Var.:Y; $R^2 = 0,68824$

MS Residual = 0,9237701

		SS	df	MS	F	р
(1)T	(L)	5.07409	1	5.07409	5.49281	.027710
Т	(Q)	30.46606	1	30.46606	32.98013	.000006
(2)P	(L)	.05093	1	.05093	.05513	.816360
Р	(Q)	.89712	1	.89712	.97115	.334224
1L b	y 2L	.40333	1	.40333	.43662	.515053
Eı	ro	22.17048	24	.92377		
Tota	al SS	71.11367	29			

• Perdas do Processo

Perdas=-1,157-0,019T+0,072P-6,234e-5T²+3,833e-4TP-4,624e-4P²

Predicted value at solution: -0,096284 (Solution: saddlepoint)

Tabela B.8 – Valores Críticos da Variável Resposta Perdas do processo (Perdas)

Fator	Valores Críticos
Т	-318,256
Р	-54,193

ANOVA; Var.: PERDAS; $R^2 = 0,13004$;

MS Residual = 7,849436

Tabela B.9 – Análise de Variância da Variável Resposta Perdas do processo (Perdas)

		SS	df	MS	F	р
(1)T	(L)	3.3039	1	3.30386	.420904	.522647
Т	(Q)	.0083	1	.00831	.001059	.974309
(2)P	(L)	1.7892	1	1.78916	.227935	.637379
Р	(Q)	17.8606	1	17.86055	2.275393	.144494
1L b	y 2L	1.7633	1	1.76333	.224645	.639807
Er	ror	188.3865	24	7.84944		
Tota	al SS	216.5467	29			

Anexo C

Estudo Cinético de Hidrólise

Grau de Hidrólise e Rendimento

A Tabela C.1 mostra os valores de grau de hidrólise e rendimento obtidos no estudo cinético de hidrólise.

Tabela C.1 - Grau de hidrólise e Rendimento em Açúcares Redutores na Hidrólise do Amido de Bagaço de Gengibre KD_{31} a 150 bar, 176 °C (\blacktriangle), 188 °C (\blacksquare), 200 °C (\bullet) com água subcrítica e CO_2 , e 30% de bagaço na alimentação do reator.

Tempo de Reação	(Grau de Hidróli	se		Rendimento	
(min)		X (%)			y (%)	
	176 °C	188 °C	200 °C	176 °C	188 °C	200 °C
1	41 ± 17	61 ± 6	77 ± 3	2 ± 1	$3,8 \pm 0,3$	11 ± 1
3		78 ± 7			3 ± 1	
5	39 ± 7	71 ± 6	85 ± 3	$2,8 \pm 0,4$	5 ± 1	14 ± 2
7	40 ± 2	77 ± 5	87 ± 1	$3,0 \pm 0,3$	7 ± 2	16 ± 1
9	46 ± 10	77 ± 6	94 ± 5	3 ± 1	8 ± 3	15 ± 1
11	49 ± 9	75 ± 15	94 ± 3	4 ± 1	14 ± 1	18 ± 3
15	46 ± 1	77 ± 4	$97,1 \pm 0,3$	4 ± 1	7 ± 2	12 ± 2

Ensaios realizados em triplicata, e em duplicata para 11 min e 188 °C

Cromatogramas dos Produtos de Reação

Cromatografia de Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

As Figuras C.1 a C.7 mostram os cromatogramas obtidos por CLAE para os produtos de reação do estudo cinético realizado a 188 °C, 150 bar.



Figura C.1 Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cinético realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 1 minuto.



Figura C.2 Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cinético realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 3 minutos.



Figura C.3 Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cinético realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 5 minutos.



Figura C.4 Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cinético realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 7 minutos.



Figura C.5 Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cinético realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 9 minutos.



Figura C.6 Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cinético realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 11 minutos.



Figura C.7 Cromatograma obtido por CLAE do produto de reação do estudo cinético realizado a 188 °C, 150 bar com tempo de reação de 15 minutos.



Figura C.8 Cromatograma obtido dos padrões (CLAE)

A Figura C.9 mostra as curvas-padrões obtidas para rafinose, sacarose, glicose, xilose e frutose por CLAE para os produtos de reação do estudo cinético realizado a 188 °C, 150 bar.



Figura C.9 Curvas-padrões de rafinose, sacarose, glicose, xilose e frutose (CLAE).

Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

As Tabelas C.2 a C.19 mostram os valores obtidos para a distribuição de massa molecular, por cromatografia de permeação em gel, dos produtos de reação das cinéticas de hidrólise realizadas a 150 bar e 176, 188 e 200 °C. A amostra relativa ao tempo de 15 minutos da cinética realizada a 200 °C não teve cromatograma, pois todos os produtos apresentaram massas moleculares menores que 160 (massa molecular da glicose).

Area	Cumulative % (%)	Retention Time (min)	Mol Wt (Daltons)	#
7247	1,783	15,865	26331709	1
8460	2,818	16,796	10761842	2
10324	4,061	17,127	4806097	3
12352	5,561	17,759	2327003	4
14576	7,329	18,390	1212003	5
18577	9,508	19,021	673771	6
23569	12,294	19,653	396667	7
29441	15,805	20,284	245384	8
34543	20,063	20,915	158262	9
38286	24,895	21,547	105588	10
40743	30,140	22,178	72304	11
41949	35,612	22,809	50423	12
45328	41,339	23,441	35531	13
51273	47,723	24,072	25101	14
55739	54,919	24,703	17641	15
58458	62,373	25,335	12236	16
74153	71,113	25,966	8312	17
65080	80,125	26,597	5486	18
30827	89,060	27,229	3491	19
16063	91,603	27,860	2125	20
9543	93,213	28,491	1228	21
16467	94,801	29,123	668	22
18748	97,581	29,754	340	23
5715	99,002	30,385	160	24
3383	99,569	31,017	69	25

Tabela C.2 Distribuição de Massas Moleculares	(GPC)- Produto de	e Reação da 🛛	Cinética .	176 °	° C ,
150 bar, Tempo de reação de 1 minuto					

Area	Cumulative % (%)	Retention Time (min)	Mol Wt (Daltons)	#
6696	1,371	15,865	26331709	1
6761	2,221	16,496	10761842	2
8140	3,177	17,127	4806097	3
9622	4,321	17,759	2327003	4
12194	5,711	18,390	1212003	5
16639	7,550	19,021	673771	6
22799	10,089	19,653	396667	7
29063	13,444	20,284	245384	8
34199	17,544	20,915	158262	9
37561	22,185	21,547	105588	10
39813	27,178	22,178	72304	11
41449	32,410	22,809	50423	12
45095	37,946	23,441	35531	13
51585	44,158	24,072	25101	14
58567	51,283	24,703	17641	15
64515	59,135	25,335	12236	16
84991	68,631	25,966	8312	17
89996	78,535	26,597	5486	18
22562	85,293	27,229	3491	19
25586	88,466	27,860	2125	20
16036	91,087	28,491	1228	21
19061	93,270	29,123	668	22
17294	95,787	29,754	340	23
4929	97,072	30,385	160	24
2267	97,501	31,017	69	25

Tabela C.3 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 176 °C, 150 bar, Tempo de reação de 5 minutos

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	26331709	15,865	1,682	8401
2	10761842	16,496	2,883	8787
3	4806097	17,127	4,196	9834
4	2327003	17,759	5,649	10833
5	5 1212003	18,390	7,293	12658
6	673771	19,021	9,284	15769
7	396667	19,653	11,789	19790
8	245384	20,284	14,871	23838
9	158262	20,915	18,488	27267
10	105588	21,547	22,508	29641
11	72304	22,178	26,795	31182
12	2 50423	22,809	31,345	33756
13	35531	23,441	36,378	37617
14	25101	24,072	41,912	40552
15	5 17641	24,703	47,845	45079
16	6 12236	25,335	55,441	65185
17	8312	25,966	65,084	73476
18	5486	26,597	71,949	18192
19	3491	27,229	74,293	17542
20	2125	27,860	76,918	17423
21	1228	28,491	78,846	10374
22	668	29,123	79,891	6691
23	340	29,754	80,891	6517
24	160	30,385	81,464	2728
25	69	31,017	81,787	2014

Tabela C.4 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 176 °C, 150 bar, Tempo de reação de 7 minutos

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	26331709	15,865	1,446	44641
2	10761842	16,496	2,425	12019
3	4806097	17,127	3,476	13469
4	2327003	17,759	4,667	15244
5	5 1212003	18,390	6,047	18252
6	673771	19,021	7,747	22963
7	396667	19,653	9,908	29215
8	3 245384	20,284	12,626	36455
9	158262	20,915	15,956	43679
10	105588	21,547	19,825	49387
11	72304	22,178	24,096	53431
12	2 50423	22,809	28,657	56594
13	35531	23,441	33,474	59804
14	25101	24,072	38,687	67075
15	5 17641	24,703	44,774	80511
16	6 12236	25,335	52,001	91555
17	8312	25,966	60,101	108752
18	5486	26,597	69,730	111618
19	3491	27,229	77,912	41970
20	2125	27,860	81,149	37419
21	1228	28,491	83,622	21779
22	2 668	29,123	85,184	16027
23	340	29,754	86,459	13993
24	160	30,385	87,430	9815
25	69	31,017	87,975	3873

Tabela C.5 Distribuição de Massas Moleculares	(GPC)- Produto d	le Reação da	Cinética	<i>176</i> °	°C,
150 bar, Tempo de reação de 9 minutos					

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	26331709	15,865	1,260	11043
2	10761842	16,496	2,103	11329
3	4806097	17,127	3,024	12906
4	2327003	17,759	4,068	14249
5	1212003	18,390	5,215	16270
6	673771	19,021	6,616	20909
7	396667	19,653	8,386	25919
8	245384	20,284	10,610	32851
9	158262	20,915	13,422	41205
10	105588	21,547	16,880	49623
11	72304	22,178	20,944	57066
12	50423	22,809	25,433	60830
13	35531	23,441	30,197	64764
14	25101	24,072	35,323	71133
15	17641	24,703	41,218	85126
16	12236	25,335	48,335	100692
17	8312	25,966	56,173	108192
18	5486	26,597	65,449	134339
19	3491	27,229	75,140	59462
20	2125	27,860	78,420	40946
21	1228	28,491	81,107	28157
22	668	29,123	82,826	17529
23	340	29,754	84,043	13438
24	160	30,385	84,797	8010
25	69	31,017	85,258	4315

Tabela C.6 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 176 °C, 150 bar, Tempo de reação de 11 minutos

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	26331709	15,865	1,219	11116
2	10761842	16,496	2,031	12610
3	4806097	17,127	3,004	15350
4	2327003	17,759	4,165	18163
5	1212003	18,390	5,549	21777
6	673771	19,021	7,220	26465
7	396667	19,653	9,251	32003
8	245384	20,284	11,692	38407
9	158262	20,915	14,626	46267
10	105588	21,547	18,151	55048
11	72304	22,178	22,239	62124
12	50423	22,809	26,725	66945
13	35531	23,441	31,532	71454
14	25101	24,072	36,684	78057
15	17641	24,703	42,580	92918
16	12236	25,335	49,597	106784
17	8312	25,966	57,471	125109
18	5486	26,597	66,950	150898
19	3491	27,229	73,069	41696
20	2125	27,860	76,223	47835
21	1228	28,491	79,145	33418
22	668	29,123	80,840	20627
23	340	29,754	82,242	17152
24	160	30,385	83,095	9786
25	69	31,017	83,667	6990

Tabela C.7 Distribuição de Massas Moleculares	(GPC)- Produto de Reação da Cinética 176 °C	, ,
150 bar, Tempo de reação de 15 minutos		

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	26331709	15,865	1,842	17259
2	10761842	16,496	3,362	21256
3	4806097	17,127	5,129	24872
4	2327003	17,759	7,278	27904
5	1212003	18,390	9,629	31671
6	673771	19,021	12,309	36087
7	396667	19,653	15,316	39790
8	245384	20,284	18,591	43222
9	158262	20,915	22,205	48595
10	105588	21,547	26,322	55506
11	72304	22,178	30,968	61675
12	50423	22,809	36,032	66318
13	35531	23,441	41,416	69831
14	25101	24,072	47,152	76084
15	17641	24,703	53,507	84332
16	12236	25,335	60,473	94169
17	8312	25,966	69,230	131179
18	5486	26,597	79,650	69772
19	3491	27,229	83,364	43549
20	2125	27,860	86,782	40806
21	1228	28,491	89,205	19934
22	668	29,123	90,404	12352
23	340	29,754	61,264	9208
24	160	30,385	91,865	6852
25	69	31,017	92,351	5481

Tabela C.8 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 188 °C, 150 bar, Tempo de reação de 1 minuto

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
	1 26331709	15,865	2,478	12767
:	2 10761842	16,496	3,981	13203
÷	3 4806097	17,127	5,645	15104
	4 2327003	17,759	7,583	17879
į	5 1212003	18,390	9,882	21206
(6 673771	19,021	12,597	24791
-	7 396667	19,653	15,716	28243
ł	8 245384	20,284	19,192	30341
ę	9 158262	20,915	22,965	34302
1(0 105588	21,547	27,335	39848
1	1 72304	22,178	32,360	45008
1:	2 50423	22,809	37,882	48654
1;	3 35531	23,441	43,915	54238
14	4 25101	24,072	50,674	59791
1	5 17641	24,703	57,922	64871
1(6 12236	25,335	66,905	87585
1	7 8312	25,966	74,458	32196
18	8 5486	26,597	78,289	32221
19	9 3491	27,229	81,915	29777
2	0 2125	27,860	84,751	18522
2	1 1228	28,491	86,283	9101
2	2 668	29,123	87,226	7798
2	3 340	29,754	88,116	6582
24	4 160	30,385	88,778	5316
2	5 69	31,017	89,372	4895

Tabela C.9 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 188 °C, 150 bar, Tempo de reação de 3 minutos

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	26331709	15,865	1,441	16707
2	10761842	16,496	2,711	21535
3	4806097	17,127	4,322	26351
4	2327003	17,759	6,217	30145
5	1212003	18,390	8,397	35080
6	673771	19,021	10,858	38796
7	396667	19,653	13,604	43295
8	245384	20,284	16,629	47204
9	158262	20,915	19,933	52037
10	105588	21,547	23,658	59782
11	72304	22,178	27,953	68642
12	50423	22,809	32,838	77382
13	35531	23,441	38,289	85486
14	25101	24,072	44,188	90950
15	17641	24,703	50,616	102826
16	12236	25,335	58,011	116850
17	8312	25,966	66,394	139253
18	5486	26,597	77,354	183018
19	3491	27,229	85,182	62236
20	2125	27,860	89,093	52731
21	1228	28,491	91,753	26028
22	668	29,123	93,010	13973
23	340	29,754	93,726	7316
24	160	30,385	94,119	5970
25	69	31,017	94,480	4266

Tabela C.10 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 188 °C, 150 bar, Tempo de reação de 5 minutos

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	26331709	15,865	0,998	11392
2	10761842	16,496	1,623	14232
3	4806097	17,127	2,458	19145
4	2327003	17,759	3,565	25335
5	1212003	18,390	5,021	32995
6	673771	19,021	6,897	41938
7	396667	19,653	9,209	50108
8	245384	20,284	11,873	56039
9	158262	20,915	14,798	61225
10	105588	21,547	18,079	70759
11	72304	22,178	21,967	85131
12	50423	22,809	26,641	101542
13	35531	23,441	32,085	115597
14	25101	24,072	38,200	128644
15	17641	24,703	44,937	141692
16	12236	25,335	52,518	162289
17	8312	25,966	61,082	181580
18	5486	26,597	71,395	237053
19	3491	27,229	83,730	139767
20	2125	27,860	89,107	90016
21	1228	28,491	92,549	47209
22	668	29,123	94,238	25461
23	340	29,754	95,304	16289
24	160	30,385	95,882	9145
25	69	31,017	96,278	7116

Tabela C.11 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 188 °C, 150 bar, Tempo de reação de 7 minutos

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	26331709	15,865	1,388	10926
2	10761842	16,496	1,914	11252
3	4806097	17,127	2,548	14588
4	2327003	17,759	3,384	19507
5	1212003	18,390	4,504	26024
6	673771	19,021	5,981	33858
7	396667	19,653	7,851	41663
8	245384	20,284	10,071	47991
9	158262	20,915	12,571	53404
10	105588	21,547	15,393	61525
11	72304	22,178	18,710	73467
12	50423	22,809	22,705	88523
13	35531	23,441	27,464	104563
14	25101	24,072	33,084	123023
15	17641	24,703	39,591	141208
16	12236	25,335	47,139	165089
17	8312	25,966	55,765	187657
18	5486	26,597	66,526	255724
19	3491	27,229	79,365	151715
20	2125	27,860	85,668	108151
21	1228	28,491	89,594	52821
22	668	29,123	91,523	29520
23	340	29,754	92,698	19203
24	160	30,385	93,511	15150
25	69	31,017	94,178	12261

Tabela C.12 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 188 °C, 150 bar, Tempo de reação de 9 minutos

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	26331709	15,865	1,069	10456
2	10761842	16,496	1,564	11277
3	4806097	17,127	2,189	15124
4	2327003	17,759	3,013	20256
5	1212003	18,390	4,146	27594
6	673771	19,021	5,657	36352
7	396667	19,653	7,595	44793
8	245384	20,284	9,846	50775
9	158262	20,915	12,387	56425
10	105588	21,547	15,239	64997
11	72304	22,178	18,613	78407
12	50423	22,809	22,718	95091
13	35531	23,441	27,602	111267
14	25101	24,072	33,254	128324
15	17641	24,703	39,747	145619
16	12236	25,335	47,151	169444
17	8312	25,966	55,784	196275
18	5486	26,597	66,180	247814
19	3491	27,229	80,194	297337
20	2125	27,860	87,094	108848
21	1228	28,491	90,853	51163
22	668	29,123	92,648	29813
23	340	29,754	93,814	18986
24	160	30,385	94,508	12853
25	69	31,017	95,054	10169

Tabela C.13 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética	188 °C	ς,
150 bar, Tempo de reação de 11 minutos		

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	26331709	15,865	1,234	11948
2	2 10761842	16,496	1,711	11704
3	4806097	17,127	1,235	13472
4	2327003	17,759	2,899	18842
5	5 1212003	18,390	3,824	25609
6	673771	19,021	5,087	34320
7	396667	19,653	6,688	42160
8	245384	20,284	8,602	49148
9	158262	20,915	10,789	55466
10	105588	21,547	13,271	63959
11	72304	22,178	16,211	77264
12	2 50423	22,809	19,807	95002
13	35531	23,441	24,180	113840
14	25101	24,072	29,342	133311
15	5 17641	24,703	35,460	159675
16	6 12236	25,335	42,660	186296
17	' 8312	25,966	51,380	232554
18	5486	26,597	91,774	271309
19	3491	27,229	75,382	415518
20	2125	27,860	84,486	163122
21	1228	28,491	89,714	85835
22	2 668	29,123	92,318	46231
23	340	29,754	93,868	28393
24	160	30,385	94,836	21061
25	69	31,017	95,604	15651

Tabela C.14 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética	188	°C,
150 bar, Tempo de reação de 15 minutos		

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	25653855	15,111	0,225	1618
2	13389979	15,721	0,665	4808
3	7348843	16,332	1,563	7128
4	4219930	16,943	2,592	7107
5	5 2522745	17,553	3,581	6657
6	1562279	18,164	4,453	5429
7	997231	18,775	5,122	4010
8	652859	19,385	5,626	3188
9	436180	19,996	6,056	2886
10	295916	20,607	6,464	2851
11	202845	21,217	6,873	2820
12	139794	21,828	7,280	3000
13	96377	22,439	7,779	4098
14	66139	23,049	8,461	5554
15	6 44954	23,660	9,541	9397
16	30113	24,271	11,079	12676
17	' 19781	24,881	13,375	19731
18	12678	25,492	16,919	29730
19	7890	26,103	21,748	39139
20	4743	26,713	28,329	54250
21	2741	27,324	37,438	72271
22	2 1515	27,935	48,393	76628
23	797	28,545	58,242	58793
24	397	29,156	64,821	34828
25	186	29,767	68,656	20248

Tabela C.15 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 200 °C, 150 bar, Tempo de reação de 1 minuto

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	713460	19,225	0,037	524
2	2 531743	19,693	0,112	475
З	399955	20,131	0,158	285
4	303040	20,569	0,202	430
5	5 230871	21,007	0,287	800
6	6 176531	21,445	0,417	973
7	z 135224	21,883	0,540	965
8	3 103579	22,321	0,702	1452
g	79190	22,759	0,930	1894
10	60320	23,197	1,243	2826
11	45692	23,635	1,674	3291
12	2 34356	24,073	2,202	4669
13	3 25595	24,511	3,012	7173
14	18858	24,949	4,203	10252
15	5 13716	25,387	5,841	13373
16	9830	25,825	7,964	17925
17	6929	26,263	10,857	24617
18	3 4795	26,701	14,872	34224
19	3252	27,139	20,367	46044
20) 2157	27,577	27,554	58159
21	1397	28,015	35,950	62521
22	2 882	28,453	44,125	55709
23	3 541	28,891	50,779	41522
24	323	29,329	55,488	28564
25	5 186	29,767	58,655	18215

Tabela C.16 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 200 °C, 150 bar, Tempo de reação de 5 minutos

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	204175	21,207	0,012	198
2	164215	21,563	0,050	433
3	132189	21,920	0,113	642
4	106396	22,277	0,208	992
5	85540	22,633	0,345	1284
6	68626	22,990	0,510	1603
7	54886	23,347	0,742	2198
8	43718	23,703	0,992	2127
9	34645	24,060	1,261	2512
10	27288	24,417	1,587	3066
11	21342	24,773	1,982	3667
12	16557	25,130	2,428	3890
13	12729	25,487	2,933	4917
14	9688	25,843	3,623	7026
15	7293	26,200	4,646	10662
16	5424	26,557	6,240	16894
17	3982	26,913	8,749	26194
18	2882	27,270	12,527	38506
19	2055	27,627	17,845	51921
20	1442	27,983	24,534	61256
21	995	28,340	31,851	62787
22	674	28,697	38,863	56545
23	448	29,053	44,772	45266
24	292	29,410	49,420	34685
25	186	29,767	52,709	22913

Tabela C.17 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 200 °C, 150 bar, Tempo de reação de 7 minutos

#	Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
1	104213	22,311	0,019	383
2	86172	22,621	0,083	869
3	3 71143	22,932	0,191	1243
4	58603	23,243	0,336	1684
5	5 48134	23,553	0,558	2630
6	39396	23,864	0,800	2111
7	7 32108	24,175	1,000	1999
8	3 26042	24,485	1,221	2416
g	21005	24,796	1,493	2976
10) 16839	25,107	1,825	3654
11	13407	25,417	2,424	4636
12	2 10595	25,728	2,744	5029
13	8 8304	26,039	3,279	5880
14	6452	26,349	3,984	8295
15	5 4966	26,660	5,030	12692
16	3784	26,971	6,663	20020
17	2852	27,281	9,219	30900
18	3 2125	27,592	13,035	44689
19	9 1565	27,903	18,274	58561
20) 1137	28,213	24,730	68519
21	816	28,524	31,864	72257
22	2 577	28,835	38,971	68147
23	3 402	29,145	45,434	61055
24	276	29,456	51,073	50675
25	5 186	29,767	55,469	38344

Tabela C.18 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 200 °C, 150 bar, Tempo de reação de 9 minutos

#	# Mol Wt (Daltons)	Retention Time (min)	Cumulative % (%)	Area
	1 114885	22,151	0,011	281
	2 94663	22,468	0,063	865
	3 77899	22,785	0,182	1593
	4 63975	23,103	0,341	1706
	5 52397	23,420	0,516	2164
	6 42769	23,737	0,772	2809
	7 34767	24,055	0,993	2041
	8 28126	24,372	1,186	2181
	9 22629	24,689	1,422	2834
1	18094	25,007	1,719	3443
1	14368	25,324	2,081	4288
1	11323	25,641	2,547	5588
1	8849	25,959	3,116	6107
1	4 6854	26,276	3,728	7265
1	5 5257	26,593	4,559	10510
1	6 3991	26,911	5,808	16283
1	17 2996	27,228	7,786	25935
1	8 2223	27,545	10,862	39249
1	1629	27,863	15,289	54005
2	20 1178	28,180	21,016	66283
2	21 840	28,497	27,625	72738
2	22 590	28,815	34,446	70896
2	23 409	29,132	40,862	65806
2	24 278	29,449	46,628	55728
2	25 186	29,767	51,169	42089

Tabela C.19 Distribuição de Massas Moleculares (GPC)- Produto de Reação da Cinética 200 °C, 150 bar, Tempo de reação de 11 minutos

Anexo D

Hidrólise de outros materiais

Tamanho médio de partícula do gengibre e da cúrcuma frescos

processados

A Figura D.1 mostra as partículas de gengibre e cúrcuma frescos processados.



Figura D.1 – (a) Gengibre (Zingiber officinale Roscoe) fresco processado,(b) Cúrcuma (Curcuma longa L.) fresca processada.

O tamanho médio das partículas do material fresco processado é mostrado na Tabela D.1.

Tabela D.1 – Tamanho Médio de Partícula do Gengibre e da Cúrcuma Frescos Processados
--

	Diâmetro maior (mm)	Diâmetro menor (mm)
Cúrcuma fresca processada	$1,5 \pm 0,7$	$0,8 \pm 0,3$
Gengibre fresco processado	$4,2 \pm 0,4$	$1,8 \pm 0,7$

Dados de Extração Supercrítica do gengibre

A ESC do gengibre foi realizada a 250 bar, 35 °C e 1,5% (v/v) de isopropanol como cosolvente para a obtenção do bagaço de gengibre a ser utilizado como matéria-prima de hidrólise, a fim de se comparar os resultados obtidos na hidrólise com aqueles obtidos com o gengibre seco/ moído. A Figura D.2 mostra a curva de rendimento global de extrato de gengibre.



Figura D.2 – Curva de Rendimento Global de extrato de gengibre (Zingiber officinale Roscoe) a 250 bar, 35 °C e 1,5% de isopropanol (v/v) como co-solvente.

Anexo E

Curvas-padrões de Glicose

Estas curvas foram usadas nas análises de açúcares redutores pelo método de Somogyi e Nelson.(Nelson, 1944) para a quantificação dos teores de amido e açúcares redutores das matérias-primas, resíduos e produtos de reação.





Figura E.1 – Curvas-padrões de Glicose utilisadas para análise de açúcares redutores pelo método de Somogyi & Nelson (Nelson, 1944)

Anexo F

Trabalho Experimental - Horas Totais em Laboratório

Ensaio	Data de realização	Nº de ensaios	Tempo (h)
Testes preliminares	Out, Nov/ 2001	16	65
Teste 1	Nov/ 2001	9	36
Teste 2	Dez/ 2001	6	24
Teste 3	Mar/ 2002	9	36
Testes c/ tempo de reação contante	Abr, Jul/ 2002	30	120
Testes c/ tempo de reação de 1 min	Jun/ 2002	5	20
Cinética 176 °C	Dez/ 2002	16	64
Cinética 188 °C	Set/ 2002	18	72
Cinética 200 °C	Nov/ 2002	18	72
Hidrólise de outras matérias-primas	Ago, Out, Nov/ 2003	18	72
Ensaios que tiveram problemas [*]		25	100
Total		170	680

Tabela F.1 – Horas Trabalhadas em Ensaios de Hidrólise

Todos os ensaios de hidrólise foram realizados em triplicata.

*Perdas maiores que 10%, quedas de energia, entupimentos do sistema, vazamentos no selo do reator.

Tabela	F.2 –	Horas	Trabalhadas	em	Análises	Químicas	de	Matérias-primas,
Produte	os e Re	síduos	de Reação					

Análise		N° de aná	ilises	Total de análise	Tempo (h)
	Resíduo	Produto	Matéria-prima		
Amido	145		6	453	570
AR	145	145	6	888	890
Umidade	105		6	333	170
ART	18	18	4	120	120
outras			21		250
				Total	2000

Todos as análises foram realizados em triplicata.

Para cada 12 análises o tempo de trabalho foi de 15 horas (amido), 12 horas (p/ açúcares redutores e açúcares redutores totais), 6 horas (umidade).

Observações: Na Tabela F.2 não foram incluídos os tempos gastos para a preparação de amostras e padrões (p/ as análises de cromatografia de permeação em gel e cromatografia líquida de alta eficiência), assim como as análises químicas que apresentaram problemas no decorrer de suas realizações.