

# **ANÁLISE DE SENSIBILIDADE GLOBAL E SELEÇÃO DE PARÂMETROS DO MODELO CINÉTICO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

O. IVO<sup>1</sup>, K. P. F. ALBERTON<sup>1</sup>, J. D. A. MARTÍNEZ<sup>1</sup>, A. R. SECCHI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Engenharia Química  
E-mail para contato: arge@peq.coppe.ufrj.br

**RESUMO** – Para tratar do problema de estimação de parâmetros com escassez de dados experimentais, foi feita a análise de sensibilidade global de um modelo cinético que descreve a hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente e, a partir dos resultados obtidos, foi realizada uma ordenação da influência dos parâmetros no modelo atentando-se às variâncias condicionadas e à existência de correlações paramétricas.

## **1. INTRODUÇÃO**

Resíduo agroindustrial gerado a partir do desfolhamento da cana-de-açúcar durante a colheita, a palha está entre as matérias-primas renováveis com maior potencial para produção de etanol lignocelulósico. Estima-se que o reaproveitamento de 50% deste resíduo, considerando rendimentos de apenas 50% nas etapas de beneficiamento, leve a um aumento de 20% na produção de etanol (Martínez, 2014). Além disso, a produção de etanol utilizando a palha da cana-de-açúcar mitiga os graves impactos ambientais resultantes da queima deste resíduo, atualmente proibida pelos órgãos legislativos ambientais.

Dentre os processos de produção de etanol a partir de biomassa, o processo enzimático tem sido considerado a tecnologia mais promissora: (i) as enzimas são altamente específicas (Béguin e Aubert, 1994), (ii) os produtos da reação usualmente são açúcares redutores, (iii) apresenta baixo custo com utilidades, pois a enzima atua em condições brandas, i.e., pH 4,8 e temperatura entre 45-50 °C (Sun e Cheng, 2002), (iv) permite maiores rendimentos, e (v) possui baixo custo de manutenção. Entretanto, alguns desafios devem ser superados para sua reprodução em escala industrial: (i) a lenta velocidade de reação, (ii) o alto custo das enzimas (Hahn-Hägerdal *et al.*, 2006), e (iii) a dificuldade em realizar a hidrólise enzimática em concentrações de substrato, superiores a 12-15% m/m (Hodge *et al.*, 2009). A hidrólise enzimática de biomassa lignocelulósica ainda é uma etapa crítica para a viabilidade do processo de conversão pela via bioquímica e a geração e análise de dados experimentais é uma tarefa trabalhosa, demorada e analiticamente desafiadora (Kadam *et al.*, 2004). Desta forma, tem-se um grande apelo ao uso da modelagem matemática, a fim de obter maior compreensão dos fenômenos envolvidos, bem como ferramenta de apoio ao projeto, otimização e controle deste processo complexo.

Neste contexto, este trabalho apresenta a análise de sensibilidade global do modelo cinético de hidrólise da palha de cana-de-açúcar desenvolvido por Kadam *et al.* (2004). Para a análise de sensibilidade global, empregam-se os índices de sensibilidade global – ISG (Sobol,

1991), que apresenta o menor custo computacional nesta classe de ferramentas. Como resultados, além de verificar a sensibilidade do modelo ao comportamento do processo, foi possível identificar o conjunto de parâmetros mais significativos para futura estimação, bem como obter a melhor região experimental para sua estimação.

## 2. MODELO MATEMÁTICO

As Equações 1 a 15 apresentam o modelo matemático que descreve a cinética da hidrólise enzimática da palha da cana-de-açúcar (Kadam *et al.*, 2004). A descrição dos elementos deste modelo é apresentada pelo Apêndice, item 6 deste artigo.

Isoterma de adsorção de Lagmuir 
$$E_{BS} = \frac{E_B}{S} = \frac{E_{\max} K_{ad} E_F}{1 + K_{ad} E_F} \quad (1)$$

Enzima adsorvida em celulose: 
$$E_{BC} = E_B \frac{C}{S} \quad (2)$$

Enzima adsorvida em hemicelulose 
$$E_{BH} = E_B \frac{H}{S} \quad (3)$$

Quantidade total de enzimas 
$$E_T = E_F + E_B \quad (4)$$

Quantidade total de sólidos 
$$S = C + H + L \quad (5)$$

Reatividade dos substratos 
$$R_S = \alpha \frac{S}{S_0} \quad (6)$$

Taxa de conversão de celulose para celobiose 
$$r_1 = \frac{k_{1r} E_{BC} R_S S}{1 + \frac{G^2}{K_{1G2}} + \frac{G}{K_{1IG}} + \frac{X}{K_{1IX}}} \quad (7)$$

Taxa de conversão de celulose em glicose 
$$r_2 = \frac{k_{2r} E_{BC} R_S S}{1 + \frac{G^2}{K_{2IG2}} + \frac{G}{K_{2IG}} + \frac{X}{K_{2IX}}} \quad (8)$$

Taxa de conversão de celobiose em glicose 
$$r_3 = \frac{k_{3r} E_F G^2}{K_{3M} \left( 1 + \frac{G}{K_{3IG}} + \frac{X}{K_{3IX}} \right) + G^2} \quad (9)$$

Taxa de conversão de hemicelulose em xilose 
$$r_4 = \frac{k_{4r} E_{BH} R_S S}{1 + \frac{G^2}{K_{4IG2}} + \frac{G}{K_{4IG}} + \frac{X}{K_{4IX}}} \quad (10)$$

Balanço de massa de celulose 
$$\frac{dC}{dt} = -r_1 - r_2, \quad C(0) = 24,45 \text{ g/L} \quad (11)$$

Balanço de massa de celobiose 
$$\frac{dG^2}{dt} = 1,056 r_1 - r_3, \quad G^2(0) = 0,0 \text{ g/L} \quad (12)$$

Balanço de massa de glicose 
$$\frac{dG}{dt} = 1,111 r_2 + 1,053 r_3, \quad G(0) = 0,0 \text{ g/L} \quad (13)$$

$$\text{Balanço de massa de hemicelulose} \quad \frac{dH}{dt} = -r_4, \quad H(0) = 11,25 \text{ g/L} \quad (14)$$

$$\text{Balanço de massa de xilose} \quad \frac{dX}{dt} = 1,136r_4, \quad X(0) = 0,0 \text{ g/L} \quad (15)$$

### 3. ANÁLISE DE SENSIBILIDADE GLOBAL

Em se tratando de análise de sensibilidade, uma dificuldade natural da abordagem local é a necessidade de uma boa estimativa inicial dos fatores do modelo a serem avaliados (variáveis e parâmetros). Na prática, é muito comum a falta de informação confiável sobre os fatores do modelo, sobretudo em relação aos parâmetros. Desta forma, a análise de sensibilidade global se mostra uma opção bastante atraente com propriedades tais como: independência do modelo, captura da influência da faixa de variação dos fatores, avaliação dos efeitos de interação entre os fatores e possibilidade de tratamento dos fatores individualmente (Saltelli *et al.*, 2008). Na abordagem global, destaca-se os chamados índices de sensibilidade, IS, cujo cálculo consiste em um procedimento numérico baseado em técnicas de amostragem Monte Carlo (Sobol, 1991). O IS de primeira ordem ( $S_i$ ) indica o quanto, em média, se pode reduzir a variância da saída se este fator ( $Par_i$ ) for fixado; logo,  $S_i$  é a medida do efeito principal (Equação 16). De acordo com Saltelli *et al.* (2008), estas estimativas  $\{S_i, i = 1, 2, \dots, k\}$  apresentam um custo computacional de  $C = N(k + 2)$ , sendo  $N$  o número de gerações e  $k$  o número de parâmetros.

$$S_i = \frac{V[E(Y/Par_i)]}{V(Y)} \quad (16)$$

em que  $V[E(Y/Par_i)]$  é a variância condicional de  $Y$  para um dado  $Par_i$  e  $V(Y)$  representa a variância incondicional (total) de  $Y$ .

### 4. RESULTADOS

Estabelecidos previamente na literatura (Kadam *et al.*, 2004; Angarita, 2014), os parâmetros  $K_{ad}$ ,  $E_{max}$  e  $\alpha$  não foram analisados, tendo seus valores fixados respectivamente em 8,577 g de proteína/g de solução, 0,026 g de enzima/kg de substrato e 1 (adimensional). Para os demais parâmetros do modelo, o  $S_i$  foi calculado com um número de gerações igual  $1 \times 10^5$ , assumindo distribuição normal de probabilidades, média ( $\mu$ ) igual a estimativa inicial (Câmara, 2012) e variância ( $\sigma$ ) igual a 25% deste valor; como apresentado pela Tabela 1. O modelo matemático e demais procedimentos numéricos foram implementados em MatLab® 2014, sendo as gerações obtidas por meio do comando *randnorm*.

Foram calculados os  $S_i$  de cada parâmetro, ao longo dos perfis temporais das variáveis de resposta do modelo. Deste modo, o ordenamento dos parâmetros quanto a influência sobre a predição para o cenário experimental estudado é dado por:  $k_{2r}$ ,  $K_{2IG}$ ,  $k_{4r}$ ,  $K_{4IG}$ ,  $k_{3r}$ ,  $k_{1r}$ ,  $K_{1IG}$ ,  $K_{3M}$ , sendo os parâmetros  $k_{3r}$  e  $k_{1r}$  de igual influência. A Figura 1 apresenta o comportamento

dos  $S_i$  desses 8 parâmetros dentre os 16 do modelo matemático, pois possuem maior influência sobre a predição do modelo, considerando o cenário experimental estudado.

Tabela 1 – Média ( $\mu$ ) e desvio padrão ( $\sigma$ ) dos parâmetros.

Parâmetro	$\mu$	$\sigma$	Parâmetro	$\mu$	$\sigma$
$k_{1r}$	0,650	0,130	$k_{3r}$	254,5	50,9
$K_{1IG2}$	9,830	1,966	$K_{3M}$	24,5	4,9
$K_{1IG}$	0,176	0,035	$K_{3IG}$	41,75	8,35
$K_{1IX}$	9,540	1,908	$K_{3IX}$	$1,0 \times 10^{10}$	$2,0 \times 10^9$
$k_{2r}$	3,170	0,634	$k_{4r}$	57,79	11,558
$K_{2IG2}$	$1,0 \times 10^{10}$	$2,0 \times 10^9$	$K_{4IG2}$	$1,0 \times 10^{10}$	$2,0 \times 10^9$
$K_{2IG}$	0,15	0,03	$K_{4IG}$	0,0230	0,0046
$K_{2IX}$	8,790	1,758	$K_{4IX}$	9,810	1,962

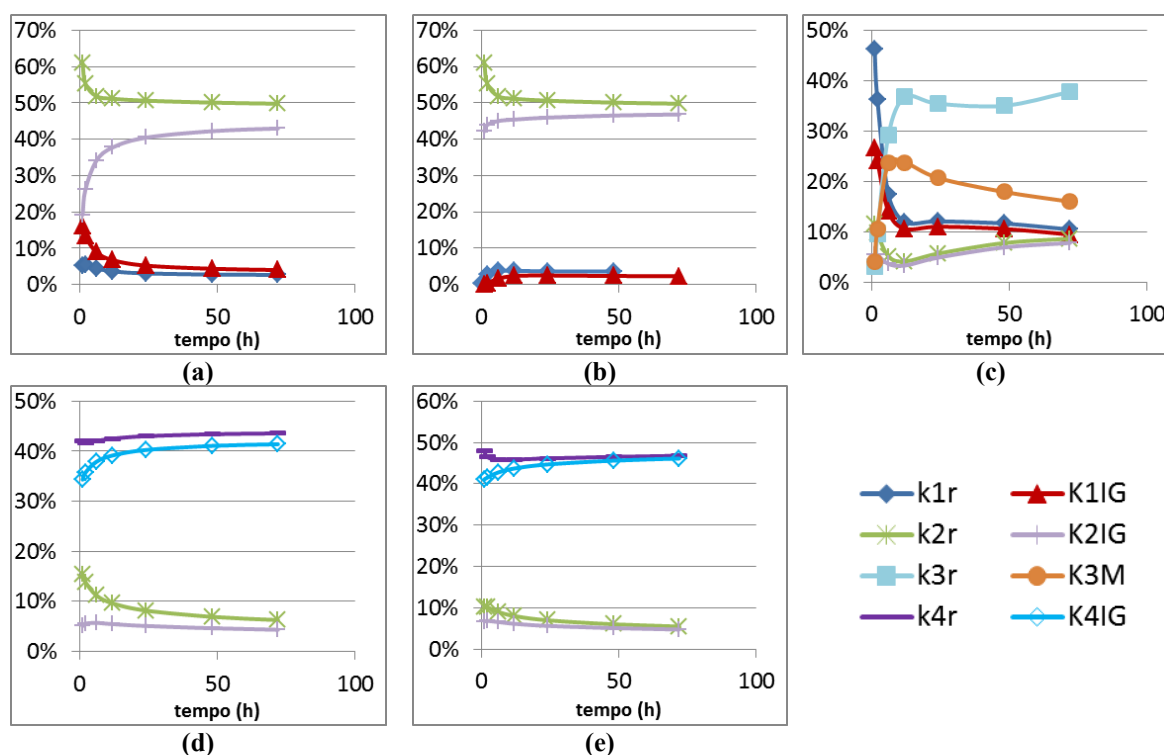


Figura 1 – Parâmetros que apresentam maior influência sobre os perfis temporais de celulose (a), glicose (b), celobiose (c), hemicelulose (d), e xilose (e).

Na Figura 1, a ausência de alguns parâmetros como  $K_{1IG2}$ ,  $K_{1IX}$ ,  $K_{2IG2}$ ,  $K_{2IX}$ ,  $K_{3IG}$ ,  $K_{3IX}$ ,  $K_{4IG2}$  e  $K_{4IX}$ , se deve ao fato de que o  $S_i$  destes parâmetros apresenta valor ínfimo ou nulo, ou seja, no cenário experimental estudado tais parâmetros possuem baixa ou nenhuma influência sobre a predição do modelo. Com relação aos parâmetros com maior influência no modelo ( $k_{1r}$ ,  $K_{1IG}$ ,  $k_{2r}$ ,  $K_{2IG}$ ,  $k_{3r}$ ,  $K_{3M}$ ,  $k_{4r}$ ,  $K_{4IG}$ ), destacam-se os parâmetros  $k_{2r}$  e  $K_{2IG}$ , cujos  $S_i$

apresentam comportamento expressivo para todas as variáveis analisadas, sobretudo a celulose e a glicose. Também merecem destaques os parâmetros  $k_{ir}$  ( $i=1,...,4$ ) que apresentam os maiores valores de  $S_i$ , o que indica que no cenário experimental estudado este subconjunto de parâmetros são os que mais afetam as variáveis de resposta do modelo. Tais resultados demonstram a acurácia do método, visto que em um modelo cinético o conhecimento das taxas de reação é essencial para a qualidade da predição.

## 5. CONCLUSÃO

A análise de sensibilidade permitiu identificar o conjunto parâmetros que apresentam maior influência sobre a predição do modelo para o cenário experimental estudado, permitindo diferenciar quantitativamente a influência de tais parâmetros. Assim, esta ferramenta demonstra ser muito útil para os estudos de modelagem, bem como em problemas de identificabilidade de parâmetros, em que estima-se o conjunto de parâmetros selecionados quando a informação experimental disponível não é suficiente em qualidade e/ou quantidade para estimação de todos os parâmetros do modelo.

## 6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao PEQ-COPPE/UFRJ e ao PIBIC-CNPQ, pelo auxílio financeiro.

## 7. APÊNDICE

Os elementos do modelo matemático estudado são descritos a seguir:

Variável	Unidade	Descrição
$C$	g/L	Concentração de celulose
$E_B$	g/L	Concentração de enzima adsorvida no substrato
$E_{BC}$	g/L	Concentração de enzima adsorvida na celulose
$E_{BH}$	g/L	Concentração de enzima adsorvida na hemicelulose
$E_F$	g/L	Concentração de enzima livre
$E_{max}$	g/kg	Concentração máxima de adsorção da enzima no substrato
$E_T$	g/L	Concentração total de enzima
$G$	g/L	Concentração de glicose
$G_2$	g/L	Concentração de celobiose
$H$	g/L	Concentração de hemicelulose
$K_{3M}$	g/kg	Constante de saturação do substrato (celobiose)
$k_{3r}$	1/h	Constante da taxa de reação
$K_{ad}$	L/g	Constante de dissociação da adsorção/desorção da enzima
$K_{iIG}$	g/kg	Constante de inibição para glicose ( $i = 1,...,4$ )

$K_{ilG2}$	g/kg	Constante de inibição para celobiose ( $i = 1,2,4$ )
$K_{ilX}$	g/kg	Constante de inibição para xilose ( $i = 1,...,4$ )
$k_{ir}$	kg/g/h	Constante da taxa de reação ( $i = 1,2,4$ )
$L$	g/L	Concentração de lignina
$r_i$	l/g/h	Taxa de reação ( $i = 1,...,4$ )
$R_s$	adimensional	Reatividade do substrato
$S$	g/L	Concentração de sólidos insolúveis
$X$	g/L	Concentração de xilose
$A$	adimensional	Constante da reatividade do substrato com o grau de hidrólise

## 8. REFERÊNCIAS

- ANGARITA, J. D. M. *Modelagem Cinética da Hidrólise Enzimática da Palha de Cana-de-Açúcar Pré-tratada Hidrotermicamente*. Dissertação de Mestrado, PEQ-COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 2014.
- BÉGUIN, P.; AUBERT, J. P. The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiology Review*, v. 13, p. 25–58, 1994.
- CÂMARA, M. M. *Modelagem e simulação da hidrólise de bagaço de cana pré-tratado com peróxido de hidrogênio em meio alcalino*. Dissertação de Mestrado, UEM, Maringá, Paraná, 2012.
- HAHN-HÄGERDAL B.; GALBE M.; GORWA-GRAUSLUND M. F.; LIDÉN G.; ZACCHI G. Bio-ethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trends in Biotechnology*, v. 24, p 549-556, 2006.
- HODGE D. B.; KARIM M. N.; SCHELL D. J.; MCMILLAN J. D. Model-based fed-batch for high-solids enzymatic cellulose hydrolysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 152, p 88-107, 2009.
- KADAM K. L.; RYDHOLM E. C.; MCMILLAN J. D. Development and validation of a kinetic model for enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass. *Biotechnol Progress*, v. 20, p. 698-705, 2004.
- SALTELLI, A.; RATTO, M. *Global Sensitivity Analysis. The primer*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2008.
- SOBOL, I.M. *A Primer for the Monte Carlo Method*. Boca Raton: CRC Press LLC, 1991.
- SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, v. 83, p. 1-11, 2002.