



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS**



**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE DIFERENTES CULTIVARES DE SORGO  
SACARINO (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) PARA PRODUÇÃO DE ETANOL  
DE 1ª E 2ª GERAÇÃO**

**MARCIO JOSÉ VASCONCELOS DA SILVA**

**Campina Grande – PB  
2017**

**MARCIO JOSÉ VASCONCELOS DA SILVA**

**AVALIAÇÃO NO POTENCIAL DE DIFERENTES CULTIVARES DE SORGO  
SACARINO (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) PARA PRODUÇÃO DE ETANOL  
DE 1ª E 2ª GERAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Engenharia de Processos.

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO:** Processos Fermentativos

**DOUTORANDO:** Marcio José Vasconcelos da Silva

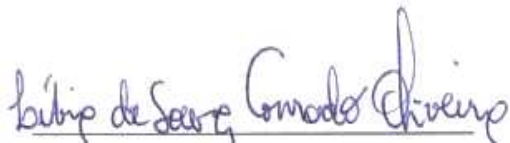
**ORIENTADORAS:** Profa. D.<sup>ra</sup>. Líbia de Sousa Conrado Oliveira  
Profa. D.<sup>ra</sup>. Josivanda Palmeira Gomes

**Campina Grande – PB  
2017**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE DIFERENTES CULTIVARES DE SORGO  
SACARINO (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) PARA PRODUÇÃO DE ETANOL  
DE 1ª E 2ª GERAÇÃO**

Tese aprovada em,05 / dezembro / 2017.

**BANCA EXAMINADORA**



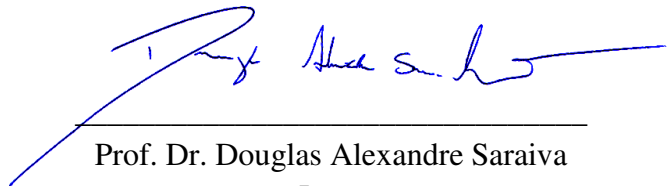
Profa. Dra. Líbia de Sousa Conrado  
Oliveira  
Doutora em Engenharia Química  
CCT/UFCG  
Orientadora



Profa. Dra. Josivanda Palmeira Gomes  
Doutora em Engenharia de Alimentos  
CCT/UFCG  
Orientadora



Dr. José Nildo Tabosa  
Doutor em Tecnologias Energéticas  
Nucleares  
IPA – instituto agrônômico de  
Pernambuco  
Examinador externo



Prof. Dr. Douglas Alexandre Saraiva  
Leão  
Doutor em Engenharia de Processos  
PROPEX/UFCG  
Examinador externo



Prof. Dr. Bruno Rafael Pereira Nunes  
Doutor em Engenharia Química  
UFCG/CCT - Examinador externo



Prof. Dr. Daniel Baracuy da Cunha  
Campos  
Doutor em Engenharia de Processos  
UEPB - Examinador externo

## *Dedico*

Aos meus pais, Maria do Carmo Vasconcelos da Silva e Nelson Manoel da Silva por todas as orientações e incentivos, que direcionam a minha vida através dos valores e exemplos simples do dia-a-dia em respeitar o próximo e acima de tudo HONRAR E AMAR A DEUS.

## *Ofereço*

A minha amada esposa Danielle Braga Tavares Vasconcelos da Silva, um exemplo de ser humano que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos dessa jornada com muita paciência, dedicação, amor e carinho me dando forças e incentivos.

## AGRADECIMENTOS

Uma tese se faz com dedicação, desprendimento, responsabilidade, persistência, paciência e muito trabalho. Mas se engana quem pensa que a faz sozinho, pelo contrário, ela é o resultado do somatório da dedicação de várias pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram para que o objetivo fosse concluído. Por isto, apresento alguns agradecimentos àqueles que deram sua contribuição:

Agradeço de forma incondicional a Deus, pelas oportunidades e bençãos recebidas.

As professoras Dr<sup>a</sup>. Líbia de Sousa Conrado Oliveira e Dr<sup>a</sup>. Josivanda Palmeira Gomes os meus agradecimentos especiais pela valiosa orientação, compreensão, amizade, contribuição para meu crescimento profissional e científico.

Ao pesquisador do IPA, Dr. José Nildo Tabosa os meus respeitos e satisfação em poder contar com sua honrosa contribuição cujas sugestões, foram valiosíssimas para o enriquecimento deste trabalho.

Ao Professor Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva, é com grande satisfação poder contar com sua honrosa contribuição cujas sugestões, foram valiosas para o enriquecimento deste trabalho e por disponibilizar a realização de algumas análises junto ao Laboratório de Engenharia de Alimentos da UFPB, e a doutoranda Lorena Lucena de Medeiros por contribuir na elaboração de algumas análises.

Aos que fazem parte da grande família do LEB (Laboratório de Engenharia Bioquímica): Clebson, Raphael, Rebeca, Deivide Figueiroa, João Neto, Bia, Patrícia, Clótildes, Douglas, Daniel Baracuy, Rhute e José Mariano Neto pela colaboração e conhecimentos compartilhados.

Aos funcionários e colegas da UFCG, Dr. Jardes Caiçara, José Lopes, Maria de Fátima e Rosemary Costa pela receptividade e inúmeras ajudas prestadas.

Aos meus irmãos Nelson Manoel da Silva Júnior e Cristina Carmem Vasconcelos da Silva que me apoiaram com palavras e acolhimento nos momentos necessários.

A minha tia Maria Eurides de Vasconcelos que me alfabetizou e viu os meus primeiros passos no processo de aprendizagem.

Aos meus sogros Maria Josefa e José Benedito que foram sempre presentes, com sábios conselhos e em disponibilizar por vezes o tempo que não tinham para me auxiliar.

Aos colegas José Marcos Freitas de Oliveira e Vansóstenes Antônio Machado de Miranda, pelas contribuições, confiança e valiosa amizade que firmamos nos anos em que convivemos juntos.

Ao Dr. José Nildo Tabosa e Dr. Luiz Evandro de Lima ambos pesquisadores do Instituto de Pesquisa Agrônômica de Pernambuco - IPA por ceder material (variedades de sorgo sacarino) possibilitando o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Instituto Federal de Ciência, Tecnologia e Educação de Pernambuco – IFPE, no qual sou vinculado como docente.

À Universidade Federal de Campina Grande, todos os professores e funcionários, por tornar possível a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xi</b>
<b>LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....</b>	<b>xii</b>
<b>CAPITULO – I</b>	
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
1.1 OBJETIVOS.....	21
1.1.1 Objetivo geral.....	21
1.1.2 Objetivos específicos.....	21
<b>CAPITULO – II</b>	
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>24</b>
2.1 Pro-álcool.....	24
2.2 Produção de etanol.....	25
2.3 Sorgo.....	26
2.3.1 Sorgo - Melhoramento genético .....	30
2.4 Etanol de 1ª geração.....	31
2.4.1 Pré-tratamento de caldo.....	33
2.4.2 Fermentação alcoólica.....	33
2.4.3 Crescimento microbiano.....	34
2.5 Etanol de 2ª geração.....	35
2.5.1 Matéria-prima celulósica - Biomassa.....	35
2.5.2 Principais fontes de resíduos lignocelulósicos.....	37
2.5.3 Celulose.....	37
2.5.4 Hemicelulose.....	38
2.5.5 Lignina.....	38
2.5.6 Pré-tratamento de materiais lignocelulósico.....	39
2.5.6.1 Hidrólise ácida.....	41
2.5.6.2 Inibidores da fermentação.....	42
2.5.6.3 Hidrólise alcalina.....	42
2.5.7 Hidrólise enzimática.....	44
2.5.8 Fermentação.....	45
2.5.9 Parâmetros cinéticos da fermentação.....	46
2.6 Estado da Arte.....	47
<b>CAPITULO – III</b>	
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>51</b>
3.1 Local da pesquisa.....	51
3.2 Matéria-prima (caldo do sorgo) .....	51
3.2.1 Avaliações agrônômica das diferentes cultivares de sorgo sacarino.....	51
3.2.1.1 Produção de matéria seca Total (folha, colmo e panícula).....	52
3.2.1.2 Produção de colmo por hectare.....	52
3.2.1.3 Teor SST de °Brix .....	52
3.2.1.4 Eficiência de extração de caldo .....	53
3.2.1.5 Etanol Teórico.....	53
3.2.2 Extração e pré-tratamento do caldo de sorgo.....	53
3.2.3 Métodos analíticos.....	55
3.2.3.1 Caracterizações físico-química do caldo.....	55

3.2.3.2	Determinação de sólidos solúveis (SST) .....	55
3.2.3.3	Determinação do pH.....	55
3.2.3.4	Determinação de açúcares redutores totais (ART).....	55
3.2.4	Fermentação dos caldos das cultivares do sorgo sacarino.....	55
3.2.4.1	Rendimento em etanol.....	56
3.2.4.2	Produtividade total em etanol.....	57
3.2.4.3	Contagem de células .....	57
3.2.4.4	Fator de conversão de substrato em célula.....	58
3.2.4.5	Velocidade específica de crescimento microbiano ( $\mu$ x).....	58
3.3	Matéria-prima (bagaço do sorgo).....	60
3.4	Caracterizações físico-química .....	60
3.5	Análise granulométrica.....	60
3.6	Caracterização microestrutural e térmica.....	61
3.6.1	Difração de raios-X (DRX).....	61
3.6.2	Comportamento térmico - termo gravimétrica.....	62
3.7	Pré-Tratamentos do bagaço do colmo sorgo sacarino.....	62
3.7.1	Pré-Tratamento ácido.....	62
3.7.2	Pré-Tratamento básico.....	64
3.7.3	Caracterização dos licores pré-hidrolisados.....	66
3.7.3.1	Determinação da concentração de açúcares.....	66
3.8	Hidrólise enzimática.....	67
3.8.1	Determinação da atividade enzimática.....	67
3.8.2	Procedimento de hidrólise enzimática.....	67
3.8.3	Quantificação dos açúcares da hidrólise.....	69

## **CAPÍTULO – IV –**

<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>72</b>	
4	Biomassa do sorgo sacarino.....	72
4.1	Caracterização agronômicas do sorgo sacarino.....	72
4.2	Caracterização dos caldos dos colmos sorgo sacarino.....	75
5	PRODUÇÃO DE ETANOL DE 1ª GERAÇÃO.....	78
5.1	Parâmetros cinéticos da fermentação para etanol de 1ª geração.....	78
5.1.1	Velocidade máxima do crescimento microbiano para etanol de 1ª geração.....	85
6	POTENCIALIDADES PARA ETANOL DE 2ª GERAÇÃO.....	86
6.1	Análise granulométrica .....	91
6.2	Caracterização do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 .....	93
6.3	Caracterização do bagaço de sorgo sacarino BRS506 .....	95
6.4	Determinação da cristalinidade por difração de raios X (DRX).....	97
6.5	Caracterização térmica – (TG/DTG) .....	100
6.5.1	Análises termogravimétricas nos bagaços de sorgo sacarino IPA EP17..	100
6.5.2	Análises termogravimétricas nos bagaços de sorgo sacarino BRS506....	104
6.6	Pré-tratamento do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	109
6.7	Pré-tratamento do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 com (NaOH).....	113
6.8	Pré-tratamento do bagaço de sorgo sacarino BRS506 com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	118
6.9	Pré-tratamento do bagaço de sorgo sacarino BRS506 com NaOH.....	122
6.10	Hidrólise enzimática.....	126
6.10.1	Perfis cinéticos para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo IPA EP17.	126
6.10.2	Perfis cinéticos para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo BRS506....	132

## **CAPÍTULO – V**

### **7. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....**

7	Conclusões .....	141
7.1	Etanol 1ª geração (caldo do sorgo) .....	141
7.2	Etanol 2ª geração (bagaço do sorgo) .....	142
7.3	Sugestões para trabalhos futuros (caldo do sorgo) .....	143
7.4	Sugestões para trabalhos futuros (bagaço de sorgo sacarino) .....	143

## **CAPÍTULO – VI.....**

8	Referências Bibliográficas.....	144
9	Apêndices.....	159



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1</b>	Sorgo sacarino no ponto de colheita.....	27
<b>Figura 2.2</b>	Planta do sorgo sacarino.....	28
<b>Figura 2.3</b>	Processo de fermentação alcoólica.....	34
<b>Figura 2.4</b>	Cadeia linear da celulose.....	37
<b>Figura 2.5</b>	Estrutura da hemicelulose.....	38
<b>Figura 2.6</b>	Compostos da lignina.....	39
<b>Figura 2.7</b>	Representação esquemática da produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica “A” após pré-tratamento “B”.....	43
<b>Figura 3.1</b>	A) Colheita e identificação, B) pesagem das variedades.....	52
<b>Figura 3.2</b>	A) Colmo de sorgo limpo, B) Extração do caldo, C) Caldo filtrado.....	53
<b>Figura 3.3</b>	A) Caldo antes da esterilização, B) Esterilização, D) Filtração.....	54
<b>Figura 3.4</b>	A) Floculação/decantação B) Caldo clarificado.....	54
<b>Figura 3.5</b>	Shaker Marconi modelo MA-420.....	56
<b>Figura 3.6</b>	Fluxograma de produção para etanol de 1ª geração.....	59
<b>Figura 3.7</b>	A) Bagaço B) Moinho de faca, C) Cominuição do bagaço.....	60
<b>Figura 3.8</b>	Agitador de peneiras PRODUTEST.....	61
<b>Figura 3.9</b>	Reator pressurizado da marca parr.....	66
<b>Figura 3.10</b>	Fluxograma de produção biotecnológica para etanol de 2ª geração.....	70
<b>Figura 5.1</b>	Perfil do consumo de substrato, produção de células e etanol, empregando caldo de sorgo sacarino da cultivar BR506. Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,35; X <sub>0</sub> : 3 g L <sup>-1</sup> .....	78
<b>Figura 5.2</b>	Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA-P134. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3; X <sub>0</sub> : 3 g L <sup>-1</sup> .....	79
<b>Figura 5.3</b>	Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA-P15. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3; X <sub>0</sub> : 3 g L <sup>-1</sup> .....	80
<b>Figura 5.4</b>	Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA-EP17. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3; X <sub>0</sub> : 3 g L <sup>-1</sup> .....	81
<b>Figura 5.5</b>	Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA-P2502. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3; X <sub>0</sub> : 3 g L <sup>-1</sup> .....	82
<b>Figura 5.6</b>	Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA-P222. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3; X <sub>0</sub> : 3 g L <sup>-1</sup> .....	83
<b>Figura 5.7</b>	Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA-P228. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3; X <sub>0</sub> : 3 g L <sup>-1</sup> .....	84
<b>Figura 6.1</b>	Granulometrias dos bagaços <i>in natura</i> cultivares BRS506 (a) e IPA EP17 (b)	91
<b>Figura 6.2</b>	Granulometrias dos bagaços pré-tratados ácido seguido de base nas cultivares BRS506 (c) e IPA EP17 (d).....	92
<b>Figura 6.3</b>	(a); (b) e (c). Difratoograma de raios – x dos bagaços da variedade IPA EP17 nas condições <i>in natura</i> , e pre-tratados ácido e ácido e básico.....	95
<b>Figura 6.4</b>	(d); (e) e (f). Difratoograma de raios – x do bagaço da variedade BRS506 nas condições <i>in natura</i> , e pre-tratados ácido e ácido e básico.....	97
<b>Figura 6.5</b>	Curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 <i>in natura</i> .....	100

<b>Figura 6.6</b>	Curvas TG/DTG apresentadas para o bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado ácido.....	101
<b>Figura 6.7</b>	Curvas TG/DTG apresentadas para o bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado ácido seguido de básico.....	102
<b>Figura 6.8</b>	Curvas termogravimétricas para bagaço de sorgo sacarino BRS 506 <i>in natura</i> .....	104
<b>Figura 6.9</b>	Curvas termogravimétricas para bagaço de sorgo sacarino BRS 506 Pré-tratado ácido.....	105
<b>Figura 6.10</b>	Curvas termogravimétricas para bagaço de sorgo sacarino BRS 506 Pré-tratado ácido seguido de básico.....	107
<b>Figura 6.11</b>	Diagrama de Pareto para pré-tratado ácida em bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 (glicose).....	109
<b>Figura 6.12</b>	Diagrama de Pareto do pré-tratado ácida em bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 (xilose).....	111
<b>Figura 6.13</b>	Diagrama de Pareto para pré-tratado básico em bagaço de sorgo sacarino IPA EP17(glicose).....	112
<b>Figura 6.14</b>	Diagrama de Pareto para pré-tratado básico em bagaço de sorgo sacarino IPA EP17(xilose).....	111
<b>Figura 6.15</b>	Superfície de resposta para porcentagem de xilose em pré-tratamento básico no bagaço de sorgo sacarino IPA EP17.....	117
<b>Figura 6.16</b>	Diagrama de Pareto para pré-tratado ácida em bagaço de sorgo sacarino BRS 506 (glicose).....	119
<b>Figura 6.17</b>	Diagrama de Pareto do pré-tratamento ácido no bagaço da variedade de sorgo sacarino BRS 506 (xilose).....	120
<b>Figura 6.18</b>	Diagrama de Pareto para pré-tratado básico em bagaço de sorgo sacarino BRS 506 (glicose).....	123
<b>Figura 6.19</b>	Superfície de resposta para porcentagem de glicose em pré-tratamento básico no bagaço de sorgo sacarino BRS 506.....	124
<b>Figura 6.20</b>	Diagrama de Pareto do pré-tratamento básico para concentração de xilose na variedade de sorgo sacarino BRS 506 (xilose).....	125
<b>Figura 6.21</b>	Perfis cinéticos das concentrações de glicose, obtidos na hidrólise enzimática de bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado.....	127
<b>Figura 6.22</b>	Perfis cinéticos das concentrações de glicose, obtidos na hidrólise enzimática de bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado, para os pontos centrais.....	128
<b>Figura 6.23</b>	Diagrama de Pareto para hidrólise enzimática para bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 em 36 h.....	130
<b>Figura 6.24</b>	Superfície de resposta para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 em 36 h.....	132
<b>Figura 6.25</b>	Perfis cinéticos da concentração de glicose e a ocorrência no aumento da concentração ao longo do tempo de hidrólise, atingindo maiores concentrações entre 24 e 48 h de hidrólise nos ensaios 1,2,3 e 4.....	133

<b>Figura 6.26</b>	Perfis cinéticos da concentração de glicose e a ocorrência no aumento da concentração ao longo do tempo de hidrólise, atingindo maiores concentrações entre 24 e 48 h de hidrólise nos pontos centrais ensaios 5,6 e 7	134
<b>Figura 6.27</b>	Diagrama de Pareto para hidrólise enzimática para bagaço de sorgo sacarino BRS506 em 36 h.....	137
<b>Figura 6.28</b>	Superfície de resposta para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo sacarino BRS506 em 36 h.....	138

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 2.1</b>	Características agrônômicas e produtivas entre as culturas de sorgo sacarino e a cana-de-açúcar para produção de etanol.....	27
<b>Tabela 2.2</b>	Comparação da composição química entre o caldo de sorgo sacarino e da cana-de-açúcar.....	29
<b>Tabela 2.3</b>	Composição percentual média dos grãos, caldo e bagaço de sorgo sacarino.....	29
<b>Tabela 2.4</b>	Metas de rendimento e qualidade de sorgo sacarino propostas para o programa de melhoramento de sorgo sacarino da EMBRAPA.....	31
<b>Tabela 2.5</b>	Composição percentual média de matérias-primas sacarídeas.....	32
<b>Tabela 2.6</b>	Rendimento em colmos, caldo e etanol de caldo de cana-de-açúcar e caldo de sorgo sacarino.....	32
<b>Tabela 2.7</b>	Caracterização físico-químico do bagaço do sorgo sacarino.....	36
<b>Tabela 2.8</b>	Métodos de pré-tratamentos de materiais Lignocelulósicos.....	40
<b>Tabela 2.9</b>	Enzimas do complexo celulósico e seu modo de ação.....	44
<b>Tabela 3.1</b>	Níveis reais e codificados das variáveis de entrada no processo de pré-tratamento ácido.....	63
<b>Tabela 3.2</b>	Matriz de planejamento fatorial completo 2 <sup>3</sup> para o hidrolisado pré-tratado com ácido sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) .....	63
<b>Tabela 3.3</b>	Níveis reais e codificados das variáveis de entrada no processo de pré-tratamento básico (NaOH).....	65
<b>Tabela 3.4</b>	Matriz de planejamento fatorial completo 2 <sup>3</sup> para o pré-tratado com hidróxido de sódio (NaOH).....	65
<b>Tabela 3.5</b>	Valores reais e codificados das variáveis avaliadas no processo otimização da hidrólise enzimática.....	68
<b>Tabela 3.6</b>	Matriz do planejamento experimental para hidrólise enzimática.....	68
<b>Tabela 4.1</b>	Resultados para produção de matéria verde (PMV), produção de matéria seca (PMS), matéria seca total(MST), produção de colmo na colheita (PCL) e eficiência de extração de caldo (EEC) nas diferentes cultivares de sorgo sacarino.....	72
<b>Tabela 4.2</b>	Dados para produção de colmo na colheita (PCL), sólidos solúveis totais ( <sup>o</sup> Brix) açúcares redutores totais (ART) e Etanol teórico (ET) nas diferentes cultivares de sorgo sacarino.....	73
<b>Tabela 4.3</b>	Composição do suco do colmo das diferentes cultivares de sorgo sacarino <i>in natura</i> .....	75
<b>Tabela 4.4</b>	Composição do suco do colmo das diferentes cultivares de sorgo sacarino pré-tratado térmico.....	76
<b>Tabela 5.1</b>	Parâmetros da fermentação do suco das diferentes variedades de sorgo após 48 h de fermentação.....	85
<b>Tabela 5.2</b>	Parâmetros cinéticos de fermentação do suco das diferentes variedades de sorgo sacarino, avaliando fator de conversão de substrato em célula (Y <sub>x</sub> /s) e velocidade máxima μ <sub>m</sub> (h <sup>-1</sup> ) .....	87
<b>Tabela 6.1</b>	Composição do material lignocelulósico do colmo das sete diferentes cultivares de sorgo sacarino <i>in natura</i> .....	88
<b>Tabela 6.2</b>	Comparação da caracterização físico-química do bagaço de sorgo sacarino na variedade IPA EP17 <i>in natura</i> , pré-tratado ácido e ácido seguido de base.....	93
<b>Tabela 6.3</b>	Comparação da caracterização físico-química do bagaço de sorgo sacarino na variedade BRS 506 <i>in natura</i> , pré-tratado ácido e ácido seguido de base.....	95

<b>Tabela 6.4</b>	Índices de cristalinidade (DRX) dos bagaços dos sorgos sacarinos IPA EP17 e BRS 506 <i>in natura</i> e pré-tratados.....	99
<b>Tabela 6.5</b>	Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 na condição <i>in natura</i> .....	101
<b>Tabela 6.6</b>	Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 na condição pré-tratado ácido.....	102
<b>Tabela 6.7</b>	Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 na condição pré-tratado ácido seguido de básico.....	103
<b>Tabela 6.8</b>	Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino BRS 506 na condição <i>in natura</i> .....	105
<b>Tabela 6.9</b>	Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino BRS 506 na condição pré-tratado ácido.....	106
<b>Tabela 6.10</b>	Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino BRS 506 na condição pré-tratado ácido seguido de básico.....	108
<b>Tabela 6.11</b>	Dados obtidos para o bagaço pré-tratado com ácido sulfúrico para variedade IPA EP17.....	109
<b>Tabela 6.12</b>	Análise de variância (ANOVA) para o licor de pré-tratado ácido em bagaço de sorgo sacarino.....	110
<b>Tabela 6.13</b>	Análise de variância (ANOVA) para pré-tratamento ácido na solubilização da hemicelulose e produção de xilose.....	112
<b>Tabela 6.14</b>	Matriz de planejamento fatorial completo 2 <sup>3</sup> para o licor pré-tratado com (NaOH) para variedade EP17.....	113
<b>Tabela 6.15</b>	Análise de variância ANOVA para pré-tratamento básico na solubilização da lignina e da glicose.....	114
<b>Tabela 6.16</b>	Análise de variância ANOVA para pré-tratamento básico na solubilização da lignina e da xilose.....	116
<b>Tabela 6.17</b>	Dados obtidos para o bagaço pré-tratado com ácido sulfúrico (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) para variedade BRS 506.....	118
<b>Tabela 6.18</b>	Análise de variância ANOVA para pré-tratamento básico na solubilização da hemicelulose e da glicose.....	119
<b>Tabela 6.19</b>	Análise de variância ANOVA para pré-tratamento básico na solubilização da hemicelulose e da xilose.....	121
<b>Tabela 6.20</b>	Matriz de planejamento fatorial completo 2 <sup>3</sup> para o hidrolisado pré-tratado com básico (NaOH) para variedade BR506.....	122
<b>Tabela 6.21</b>	Análise de variância ANOVA para pré-tratamento básico na solubilização da lignina e da glicose.....	123
<b>Tabela 6.22</b>	Análise de variância ANOVA para pré-tratamento básico na solubilização da lignina e da xilose.....	126
<b>Tabela 6.23</b>	Concentração teórica de glicose para cada condição trabalhada.....	127
<b>Tabela 6.24</b>	Quantificação da glicose (g L <sup>-1</sup> ) da cinética da hidrólise enzimática para variedade IPA EP17.....	129
<b>Tabela 6.25</b>	Matriz do planejamento para melhor condição da hidrólise da concentração da glicose carga enzimática (FPU/g) e da relação massa bagaço do sorgo/extrato enzimático(g L <sup>-1</sup> ).....	130
<b>Tabela 6.26</b>	Análise de variância ANOVA para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo sacarino pré-tratado em 36 h.....	131

<b>Tabela 6.27</b>	Concentração teórica de glicose para cada condição trabalhada.....	133
<b>Tabela 6.28</b>	Quantificação da glicose ( $\text{g L}^{-1}$ ) da cinética da hidrólise enzimática para variedade BRS506.....	135
<b>Tabela 6.29</b>	Matriz do planejamento para melhor condição da hidrólise da concentração da glicose carga enzimática (FPU/g) e da relação massa bagaço do sorgo/extrato enzimático ( $\text{g L}^{-1}$ ).....	136
<b>Tabela 6.30</b>	Análise de variância ANOVA para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo sacarino pré-tratado em 36 h.....	137

## LISTA E SIGLAS DE ABREVIÇÕES

ANOVA - Análise de variância  
AR - Açúcares redutores;  
ART - Açúcares redutores Totais;  
AT<sub>0</sub> - concentração de Glc e Frt no início da fermentação (g.L<sup>-1</sup>);  
AT<sub>F</sub> - concentração dos açúcares Glc e Frt no tempo final de fermentação (g.L<sup>-1</sup>);  
Atm - atmosfera;  
Brix - Sólidos solúveis totais;  
CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;  
CNAL - Conselho Nacional do Alcool;  
CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento;  
DRX - Difração de Raio X (Determinação da cristalinidade);  
ECA - Eficiência de conversão de açúcar em etanol;  
EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária;  
ha - hectares;  
HMF - Hidroximetilfurfural;  
HPLC - High Performance Liquid Chromatography;  
IPA - Instituto de Pesquisas Agronômicas;  
IPA P - Instituto de Pesquisas Agronômicas (Progenie)  
IPA EP - Instituto de Pesquisas Agronômicas (Ensaio de Progenie)  
m/v - relação massa /volume;  
M - Molar;  
MAPA - Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento;  
MDIC - Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior;  
MSR - Metodologia de Superfície de Resposta;  
nm - nanômetros;  
P- concentração de etanol (g.L<sup>-1</sup>);  
P<sub>F</sub> - concentração de etanol no tempo final de fermentação (g.L<sup>-1</sup>);  
P<sub>0</sub> - concentração de etanol no início do processo fermentativo (g.L<sup>-1</sup>);  
Qp - Produtividade volumétrica de etanol;  
RPM – Rotação por minuto;  
T- tempo de fermentação;  
TG - Termo gravimétrica (Comportamento térmico)  
SHF - Separate Hydrolysis and Fermentation  
SSCF - Simultaneous Saccharification and Co-Fermentation;  
SSF - Simultaneous Sacarification and Fermentation;  
Yp/s - rendimento de etanol por grama de açúcar consumido;

## RESUMO

Na busca por fontes de energia renováveis e alternativas que reduzam a emissão de gases nocivos ao meio ambiente, diminuindo assim o uso de combustíveis fósseis em face da conscientização global, os biocombustíveis são uma fonte alternativa de energia, sendo principal destaque o etanol de 1ª e 2ª geração. Objetivou-se neste trabalho avaliar o potencial de diferentes cultivares de sorgo doce (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) para produção de etanol de 1ª geração a partir da fermentação do caldo dos colmos e etanol de 2ª geração a partir do substrato (bagaço). Para obtenção dos açúcares fermentescíveis a partir do bagaço, utilizou-se pré-tratamento ácido seguido de básico com auxílio de uma matriz de planejamento experimental 2<sup>3</sup>+3 pontos centrais para avaliar os efeitos das variáveis de entrada, tempo, temperatura e concentrações de ácido e base, verificando a solubilização da hemicelulose e lignina. Para avaliar a hidrólise enzimática verificou-se, por meio da aplicação de uma matriz de planejamento experimental 2<sup>2</sup>+3 pontos centrais, o efeito da carga enzimática e a razão massa seca de bagaço de sorgo e extrato enzimático. Foram usadas as enzimas comerciais Celluclast 1.5L da Novozyme e beta-glicosidase da Prozyn na hidrólise enzimática para obtenção de açúcares fermentescíveis. A pesquisa foi desenvolvida no laboratório de engenharia bioquímica – LEB, na Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, no estado da Paraíba e no Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, ambas localizadas na região do nordeste Brasileiro, a colheita das progens foi realizada na Estação Experimental do IPA no município de Vitória de Santo Antão, localizado na Zona da Mata de Pernambuco (lat: 35° 22' W, long: 08° 08' S, altitude: 146 m) no período de março/2013 a setembro/2017. Os resultados referentes aos dados agrônômicos apresentaram diferenças significativas para um intervalo de confiança de 95% pelo teste Tukey. Dentre as sete cultivares pesquisadas as que obtiveram maiores teores de sólidos solúveis totais em campo foram entre BRS506, IPA2502, IPA EP17, IPA P222, IPA P134, IPA P228 e IPA SF15 com valores entre 12,3±0,08; 5,1±0,10; 16,8±0,40; 14,8±0,11; 7,1±0,10; 9,2±0,10 e 13,6±0,27 °Brix, respectivamente. Os resultados referentes a fração sacarina (caldo do sorgo sacarino) foram analisados usando o teste de Tukey para um intervalo de confiança de 95%. Nos dados encontrados para concentração de etanol de 1ª geração, obtidos na fermentação dos caldos das cultivares que se destacaram foram IPA SF15, BRS506, IPA EP17, IPA P222 e IPA P134 com valores entre 55,72 ± 0,24; 45,46 ± 1,5; 44,6 ± 0,18; 33,78 ± 0,57 e 31,78 ± 0,28 g.L<sup>-1</sup> respectivamente. As frações (bagaço) para avaliação na produção de etanol de 2ª geração, as cultivares IPA EP17 e BRS506, após pré-tratamento ácido seguido de básico, mostraram-se eficientes em concentrar a celulose, pela solubilização da hemicelulose e lignina, acarretando um aumento da celulose de 31,70 ± 0,49 para 60,42 ± 0,91% na variedade IPA-EP17 e para variedade BRS506 de 40,6 ± 1,1 para 64,52 ± 0,82% respectivamente. Os resultados encontrados no processo de hidrólise enzimática dos bagaços das variedades IPA EP17 para produção de glicose foi de 26,23 g L<sup>-1</sup>, nas condições de carga enzimática e razão (relação massa seca de bagaço) por volume de meio reacional (25 FPU/g e 2%) no tempo de 36 h de hidrólise e rotação constante de 150 RPM, e para BRS506 a produção de glicose foi de 25,17 g L<sup>-1</sup>, nas condições de carga enzimática e razão (relação massa seca de bagaço) por volume de meio reacional (25 FPU/g e 2%) no tempo de 36 h de hidrólise.

**Palavras-chave:** fermentação, pré-tratamento, hidrólise enzimática, biocombustíveis.



## ABSTRACT

In the search for renewable energy sources and alternatives that reduce the emission of harmful gases to the environment, thus reducing the use of fossil fuels in the face of global awareness, biofuels present as an alternative, the main highlight being ethanol. The objective of this work was to evaluate the potential of different cultivars of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) For the production of ethanol of 1st generation from the fermentation of the broth the 2nd generation ethanol from the substrate (bagasse). To obtain the fermentable sugars from the bagasse, acid pretreatment followed by base with the aid of experimental planning  $2^3 + 3$  central points was applied to evaluate the effects of the variables of entry, time, temperature and acid and base concentrations, verifying the solubilization of hemicellulose and lignin. In order to evaluate the enzymatic hydrolysis, the effect of the enzymatic loading and the dry mass ratio of sorghum bagasse and enzyme extract were verified using experimental planning design  $2^2 + 3$  central points. The commercial enzymes Celluclast 1.5L from Novozyme and beta-glucosidase from Prozyn were used in the enzymatic hydrolysis to obtain fermentable sugars. The research was carried out at the biochemical-engineering laboratory - LEB, at the Federal University of Campina Grande - UFCG, in the state of Paraíba and at the Agronomic Institute of Pernambuco - IPA, both located in the northeast region of Brazil. The progenies were collected at the IPA Experimental Station in the city of Vitória de Santo Antão, located in the Zona da Mata of Pernambuco (lat: 35 ° 22 'W, long: 08 ° 08' S, altitude: 146 m) from March / 2013 to September / 2017. The results concerning agronomic data presented significant differences for a 95% confidence interval by the Tukey test. Among the seven cultivars studied, the highest soluble solids in the field were BRS506, IPA2502, IPA EP17, IPA P222, IPA P134, IPA P228 and IPA SF15 with values between  $12,3 \pm 0,08$ ;  $5,1 \pm 0,10$ ;  $16,8 \pm 0,40$ ;  $14,8 \pm 0,11$ ;  $7,1 \pm 0,10$ ;  $9,2 \pm 0,10$  and  $13,6 \pm 0,27$  °Brix, respectively. Results for saccharin fraction (sorghum broth) were analyzed using the Tukey's test for a 95% confidence interval. In the data obtained for the concentration of ethanol of 1st generation, obtained in the fermentation of the broths of the cultivars that stood out were IPA SF15, BRS506, IPA EP17, IPA P222 and IPA P134 with values between  $55,72 \pm 0,24$ ;  $45,46 \pm 1,5$ ;  $44,6 \pm 0,18$ ;  $33,78 \pm 0,57$  and  $31,78 \pm 0,28$  g.L<sup>-1</sup> respectively. The fractions (bagasse) for evaluation in the production of second generation ethanol, IPA EP17 and BRS506, after acid pretreatment followed by basic, were efficient in concentrating the cellulose by the solubilization of hemicellulose and lignin, resulting in an increase of cellulose from  $31,70 \pm 0,49$  to  $60,42 \pm 0,91\%$  in the variety IPA-EP17 and for the BRS506 variety from  $40,6 \pm 1,1$  to  $64,52 \pm 0,82\%$  respectively. The results obtained in the enzymatic hydrolysis process for the IPA EP17 variety in the glucose production were 26,23 g L<sup>-1</sup>, for enzyme loading conditions and ratio (bagasse dry mass ratio) per reaction medium volume (25 FPU / and 2%) in the time of 36 hours of hydrolysis and constant rotation of 150 RPM, for BRS506 variety the glucose production was 25,17 g.L<sup>-1</sup>, for the conditions of enzymatic loading and ratio (bagasse dry mass ratio) by volume of reaction medium (25 FPU / g and 2%) in the time of 36 hours of hydrolysis.

**Keywords:** fermentation, pretreatment, enzymatic hydrolysis, biofuels.

---

# Capítulo I

---

Introdução

---

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização crescente de combustíveis fósseis, iniciada há décadas, tem gerado, juntamente com as queimadas e desmatamentos, o acúmulo na atmosfera de gases poluentes, particularmente de CO<sub>2</sub>, responsável pelo efeito estufa e consequentes alterações climáticas. Esse quadro exige modificações conscientes, embasadas no protocolo de Kyoto de forma a diminuir a emissão destes gases, utilizando como alternativa energia renovável (PEREIRA Jr. et al., 2008). Nesse contexto a União Europeia firmou acordo em Paris, marcando uma mudança histórica que prevê orientar o mundo no processo de transição global para energia limpa, em que haverá estímulos aos investimentos e inovações no uso das energias renováveis, com projeções para uma redução em 40% da emissão de gases nocivos ao meio ambiente até 2030 (COR, 2015).

Os países mais industrializados que compõem o G7, Alemanha, França, Reino Unido, Itália, EUA, Canadá e Japão, destacaram o compromisso de reduzir até nível de 0% no consumo de combustíveis fósseis até 2100. Assim o acordo histórico assinado prevê uma redução gradativa de emissões de gases do efeito estufa de 40 a 70% até o ano de 2050, e o comprometimento em acelerar incentivos em energias renováveis (UDOP, 2016).

No Brasil, o sinônimo de combustível renovável, que polui menos em comparação com os derivados de petróleo, é o etanol que ocupa lugar de destaque no cenário energético nacional (JANK, 2009). Uma perspectiva realista prever que nos próximos 15 a 20 anos, mais de 10% de toda a gasolina utilizada no mundo possa ser substituída por biocombustíveis e esta demanda de energia está projetada para crescer mais de 50% até 2028, decorrente do crescimento de países em rápido desenvolvimento, levando assim à necessidade de um aumento significativo da produção de etanol (ALPER e STEPAHNOPOULOS, 2009; GOLDEMBERG, 2008).

A cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* (L.)) destaca-se no cenário nacional, com produção estimada para a safra 2017/18, em 647,6 milhões de toneladas e área plantada de aproximadamente 8,84 milhões de hectares, com estimativa para fabricação de etanol em 26,45 bilhões de litros (CONAB, 2017). Em virtude da grande demanda atual por etanol e a cana-de-açúcar ter limitações principalmente em áreas de precipitação reduzida, o cultivo de sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), surge como uma alternativa para a geração de biomassa e produção de etanol (ZEGADALIZARAZU e MONTI, 2012), sendo também utilizadas nas regiões canavieiras

suplementando a cana-de-açúcar, principalmente no período de entressafra, dando continuidade as atividades nas destilarias. Além destes aspectos é importante salientar a possibilidade do uso da irrigação em regiões precárias de produção, para isso é importante salientar que a eficiência do uso de água, equivale a 1/3 da quantidade utilizada pela cana-de-açúcar e 1/2 do milho (REDDY, 2005).

O sorgo sacarino se assemelha à cana-de-açúcar, uma vez que o armazenamento de açúcares se localiza nos colmos, além de fornecer grande quantidade de massa verde (bagaço e palha). Entretanto, ele difere de maneira acentuada pelo fato de ser cultivado a partir de sementes e apresentar um ciclo vegetativo bem mais curto, entre 90 a 130 dias (HAN et al., 2013), ganha destaque no cenário nacional brasileiro, principalmente nas áreas da zona da mata nordestina onde a cana-de-açúcar já não apresenta produtividade satisfatória tendo em vista aos índices pluviométricos irregulares, e no semiárido - mesorregiões do sertão e do agreste (TABOSA et al., 2002).

Além das diferentes matérias-primas pesquisadas com açúcar diretamente fermentescíveis, os materiais lignocelulósicos também vêm sendo estudados como fonte de açúcares fermentáveis para a produção de etanol, devido à sua grande disponibilidade e baixo custo, e para a construção de biorrefinarias integradas, um conceito análogo ao das refinarias de petróleo (BASTOS, 2009; MARTÍN et al., 2007). O Brasil é conhecido por seu grande potencial de produção de recursos renováveis tais como, resíduos agrícolas (como o bagaço de cana-de-açúcar, a palha de arroz, a palha de trigo, a casca de aveia e casca de frutas entre outros), resíduos florestais (como aparas de madeira, pó e restos de serraria), e culturas como o salgueiro e capim-elefante (GALBE e ZACCHI, 2010). As condições tecnológicas dos açúcares contidos nas frações celulósicas (glicose) e hemicelulósica (manose, arabinose, xilose, glicose e galactose) representam os substratos que podem ser utilizados para a produção biotecnológica de etanol. No entanto, a associação entre as três frações principais (celulose, hemicelulose e lignina) é tamanha que apresenta obstáculos para a recuperação dos açúcares constituintes na forma de monômeros com elevado grau de pureza (SUN e CHENG, 2002). Dessa forma, faz-se necessário um tratamento prévio para a remoção destes componentes, facilitando o acesso das enzimas à celulose (SANTOS et al., 2012). Segundo Rossell (2006) para produção do álcool utilizando como matéria-prima a biomassa lignocelulósica, o emprego de três etapas de processamentos é necessário: Pré-tratamento para separar celulose e lignina; hidrólise ácida ou enzimática, para transformação de celulose em glicose e fermentação alcoólica por leveduras.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral

Avaliação dos colmos (caldo e bagaço) de diferentes cultivares do Sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) quanto ao potencial na produção de etanol de 1ª e 2ª geração.

### 1.2.2 Objetivos específicos

Comportamento agronômico (avaliação de campo)

- Avaliar o comportamento no campo das sete cultivares de sorgo sacarino relacionadas à: produção de matéria seca total (PMS), produção de colmo (PCL); sólidos solúveis totais na colheita (°Brix), eficiência de extração de caldo (EEC) e etanol teórico (ET).

Caldo do sorgo sacarino (etanol de 1ª geração)

- Caracterizar físico-quimicamente os caldos dos colmos das variedades de sorgo sacarino, *in natura* e pré-tratado quanto à SST, pH e ART.
- Fermentar em batelada simples os caldos dos colmos das diferentes cultivares de sorgo sacarino para produção de etanol de 1ª geração utilizando levedura *Saccharomyces cerevisiae*.
- Determinar os parâmetros cinéticos da fermentação, produtividade total em etanol e eficiência do processo fermentativo.

Biomassa do sorgo sacarino (etanol de 2<sup>a</sup> geração)

- Determinar por meio da caracterização físico-química o percentual de umidade, cinzas, extrativos, celulose, hemicelulose e lignina dos bagaços dos colmos do sorgo sacarino *in natura* e pré-tratado ácido e ácido seguido de básico;
- Realizar os pré-tratamentos ácido seguido de básico, aplicando diferentes concentrações de ácido sulfúrico e hidróxido de sódio para solubilizar a hemicelulose e lignina, utilizando de planejamentos experimentais;
- Determinar a cristalinidade dos bagaços de sorgo sacarino *in natura* e pré-tratado ácido seguido de básico através de DRX.
- Avaliar o comportamento térmico dos bagaços de sorgo sacarino (TG e DTG).
- Hidrolisar enzimaticamente os bagaços dos colmos das variedades de sorgo sacarino que apresentarem melhores resultados após pré-tratamentos e apresentem em seus licores resultados estatisticamente satisfatórios para glicose.

---

# Capítulo II

---

REVISÃO DE LITERATURA

---

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Pró-álcool**

O Pró-álcool criado na década de 70, com a finalidade de obter o álcool combustível a partir da fermentação da sacarose da cana-de-açúcar (LORA e ANDRADE, 2009), surgiu com a crise do petróleo, e foram implantadas diversas destilarias de etanol em todo o Brasil, visando a substituição pelo uso alternativo deste biocombustível ao petróleo e seus derivados (SCANDIFFIO, 2005).

No programa Brasileiro do Álcool (Pró-álcool), destacam-se quatro fases distintas:

A primeira fase (1975 a 1979) foi caracterizada pelo esforço em aumentar a produção de álcool anidro, usando o melaço, subproduto da produção de açúcar, a fim de ser utilizado como aditivo na quantidade de 1,1% a gasolina (COSTA et al., 2010).

A segunda fase (1980 a 1986) foi caracterizada pela segunda crise do petróleo. A produção de etanol chegou, ao final do período, a 12 bilhões de litros, 15% maior do que a meta estabelecida pelo governo. Fazendo com que nesta fase a proporção de veículos a álcool aumentasse de 0,46% em 1979 para 76,1% em 1986 (COSTA et al., 2010).

Denominada como “contra choque do petróleo” a terceira fase (1986 a 1995), se apresenta pelo baixo preço do barril de petróleo, comprometendo os programas de substituição de hidrocarbonetos fósseis e de uso eficiente da energia em todo o mundo. Os efeitos foram sentidos na política energética brasileira a partir de 1988, coincidindo com um período de escassez de recursos públicos para subsidiar os programas de estímulo aos energéticos alternativos, com isso trouxe a crise de abastecimento de álcool no fim dos anos 1980 afetando a credibilidade do pró-álcool, e juntamente com a redução de estímulos ao seu uso, provocou, nos anos seguintes, um significativo decréscimo da demanda nas vendas de automóveis movidos por esse combustível (ZANCANER, 2008).

A conscientização mundial ao Protocolo de Kyoto que estimula a redução da emissão de gases nocivos na atmosfera com o uso de biocombustíveis em detrimento aos combustíveis fósseis e com o surgimento dos veículos bicombustíveis (flex fuel), caracteriza a quarta fase do pró-álcool (MICHELLON et al., 2008).



## 2.2. Produção de etanol

Os sistemas de produção na atualidade convivem com um questionamento crescente de paradigmas estabelecidos pela economia e dentro de um contexto de desenvolvimento ligados a sustentabilidade onde os setores primários e secundários tem o desafio de implementar em seus sistemas o desenvolvimento de seus produtos biodegradáveis, oriundos de fontes renováveis, com baixos custos e redução de energia (BARCELOS, 2012; PACHECO, 2012).

Desta forma, o mundo se prepara para mudanças quanto ao consumo e dependência do petróleo por motivos econômicos, geopolíticos e ambientais, tendenciado a redução gradativa destes por energia renovável até sua completa substituição (OLIVEIRA e VASCONCELOS, 2011).

A produção mundial de etanol é proveniente basicamente de fontes com açúcares diretamente fermentescíveis como amiláceas e sacarinas, sendo o milho responsável por mais de 58 milhões de metros cúbicos de etanol nos Estados Unidos, enquanto no Brasil a cana-de-açúcar representa 27 milhões de metros cúbicos, totalizando a soma na produção nesses dois países em 83,5% de toda produção mundial de etanol em 2013 (RFA, 2010). No entanto, quando comparado ao consumo de gasolina nos Estados Unidos no ano de 2010, toda essa produção de etanol corresponde a apenas 10% (USDA, 2014).

O que confere competitividade ao etanol brasileiro em nível mundial são os custos de produção e a não concorrência direta entre matéria prima para produção de alimento e produção de bioenergia. Quando comparados os custos ao etanol norte-americano, que usa o milho como matéria prima, o etanol brasileiro fica entre 30 e 50% inferior, e quando comparado com o etanol europeu que usa a beterraba sacarina, o valor na produção nacional de etanol chega a ficar 75% inferior (BASTOS, 2009).

Para que haja um incremento significativo na produção e participação do etanol no mercado internacional de combustíveis, se faz necessário o aumento da oferta deste bioproduto demandando um maior investimento nestas culturas agrícolas, o que acarretará no uso de terras férteis para se ter produzir esse biocombustível ou como alternativa uso de novas culturas e tecnologias voltadas para matéria prima lignocelulósica (USDE, 2006).

Nesse contexto, o uso de matérias-primas que não concorram diretamente com a produção de alimentos, assim como a cana-de-açúcar e novas culturas como o sorgo

sacarino que apresenta colmos dos quais se extrai o caldo contendo açúcares diretamente fermentescíveis e o resíduo (bagaço e folhas), vem sendo estudada e melhorada geneticamente para produção de etanol tanto de primeira quanto de segunda geração (MAY et al., 2012; RUTTO et al., 2013).

### **2.3.Sorgo sacarino**

O sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) pertence à família da poaceae e tem origem na África onde é encontrada com maior variabilidade de espécies silvestres e cultivadas, sendo conhecida mundialmente como cultura promissora na produção de energia e biomassa (ALVINO et al., 2012).

Caracterizada por sua elevada eficiência fotossintética, o sorgo sacarino é classificado como uma planta de metabolismo C<sub>4</sub> podendo ser adaptada em diferentes climas (temperados e tropicais), apresenta o amplo potencial de adaptação do sorgo no mundo (DALVI et al., 2012).

Apresentando alto nível de biomassa vegetal e elevada concentração de açúcares diretamente fermentescíveis extraído do colmo (EGGLESTON et al., 2007), o sorgo sacarino mostra também potencial no aproveitamento dos grãos para retirada do amido e da celulose do bagaço para serem convertidos em açúcares, após pré-tratamentos e hidrólise enzimática seguindo para fermentação (MUSSATO e TEXEIRA, 2010).

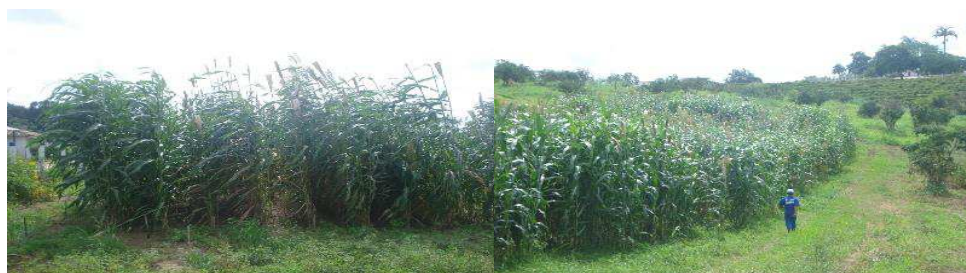
O bagaço dessa matéria prima pode ser utilizado como fonte de alimento animal, para adubação orgânica e na indústria de papel (WANG e LU, 2012), na produção de etanol de segunda geração a partir de processos biotecnológicos (LI et al., 2010).

Em comparação com a cana-de-açúcar, cuja cultura tradicionalmente utilizada na produção de etanol, o sorgo sacarino apresenta-se como opção do ponto de vista agrônômico e industrial para tal propósito, pois assemelha-se a cana-de-açúcar com relação a produção de energia, uma vez que armazena açúcares (sacarose, glicose e frutose) diretamente fermentescíveis em seus colmos com sólidos solúveis totais (SST) variando entre 14 a 22%, podendo ainda ser aproveitado da planta os grãos, aumentando assim a produção de etanol (ALMODARES e SEPAHI, 1996).

O ciclo do sorgo sacarino gira em torno de 90 a 120 dias, o que possibilita mais de uma safra por ano, e considerando uma produtividade média por safra de 50 t ha<sup>-1</sup>, pode-se concluir que o sorgo sacarino é uma cultura bastante eficiente na produção de

biomassa para produção de bioetanol (PARRELLA et al., 2010). A Figura 2.1 apresenta a matéria-prima em ponto de colheita.

**Figura 2.1.** Sorgo sacarino no ponto de colheita



Fonte: Autor (2014)

Apresenta-se com potencial para complementar a entressafra da cana-de-açúcar, pois tem em suas características o ciclo rápido, sistema de plantio mecanizável (plantio por sementes e colheita mecânica) com produção entre 40 a 60 t ha<sup>-1</sup> (EMBRAPA, 2012), podendo ser processado na mesma planta industrial utilizada para cana-de-açúcar, com pequenas adequações apenas nas moendas e picadores (FREITA, 2013).

Segundo Parrella et al. (2012) as cultivares de sorgo sacarino apresentam período útil de industrialização (PUI) por volta dos 30 dias, assim, sua utilização no processo produtivo ocorreria no período de entressafra da cana.

A Tabela 2.1 apresenta algumas características agronômicas e de produção, comparativas entre o sorgo sacarino e a cana-de-açúcar matérias-primas estas utilizadas no Brasil para produção de etanol de 1<sup>a</sup> geração (FREITA, 2013).

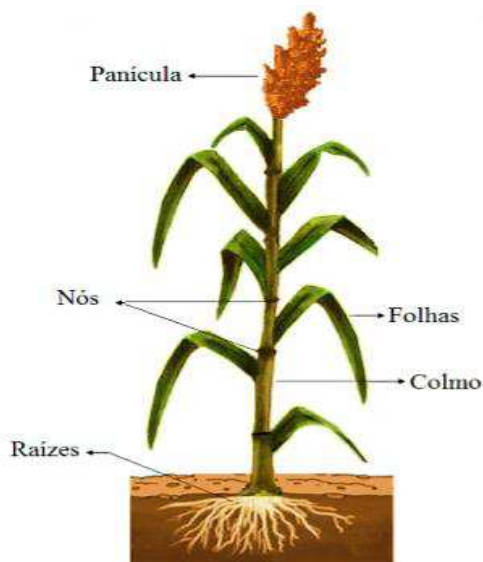
**Tabela 2.1.** Características agronômicas e produtivas entre as culturas de sorgo sacarino e a cana-de-açúcar para produção de etanol.

Parâmetros	Sorgo sacarino	Cana-de-açúcar
Tipo de plantio	Propagação por sementes	Propagação vegetativa
Tempo de ampliação do plantio	Menor propagação por sementes	Maior propagação vegetativa
Áreas marginais	Cultivada em áreas marginais	Limitada em áreas marginais
Ciclo de crescimento (meses)	3 a 4,5	9 a 18
Água utilizada (L de água/Kg de biomassa seca)	300	600
Produção de etanol (mil L ha <sup>-1</sup> mês <sup>-1</sup> *)	0,75 a 0,9	0,58 a 0,62
Produção de biomassa (t ha <sup>-1</sup> )	60	80 a 85

Fonte: Freita (2013).

A planta do sorgo sacarino tem sua estrutura básica apresentada na Figura 2.2, divididas entre a panícula onde se encontram os grãos ricos em amido quando completado o seu período de maturação, os colmos divididos entre nós de onde se extrai o suco rico em açúcares diretamente fermentescíveis e as raízes e folhas que fazem o processo de absorção de água, nutrientes e realizam os processos fotossintéticos (RAJKUMARA, 2008).

**Figura 2.2.** Planta de sorgo sacarino



Fonte: Fornasieri Filho e Fornasieri (2009)

A composição química do caldo do sorgo sacarino encontra-se apresentada na Tabela 2.2, comparado ao caldo da cana-de-açúcar que apresenta algumas semelhanças, embora o sorgo apresente concentrações de sacarose inferior, compensa nas concentrações de glicose e frutose chegando a ser maiores do que na cana-de-açúcar, tem-se desta forma uma concentração semelhante de açúcares totais entre os caldos das matérias-primas (BARCELOS, 2012; PACHECO, 2012).

Os açúcares redutores em sorgo têm ampla faixa de variação em relação ao genótipo e ao estágio de maturação em que se encontra a planta, ou seja, quanto mais próximo o estágio de maturação fisiológica do sorgo sacarino, há uma pequena redução nos teores dos açúcares redutores. (CHANNAPPAGAUDAR, 2009).

**Tabela 2.2.** Comparação da composição química entre o caldo de sorgo sacarino e da cana-de-açúcar.

<b>Parâmetros</b>	<b>Sorgo sacarino</b>	<b>Cana-de-açúcar</b>
Sólidos solúveis totais (°Brix)	15 - 19	18 - 25
Pureza (%)	60 - 75	80 - 90
Fibra (%)	12 - 20	10 -15
AR (%)	9 - 16	14,5 - 23
Glicose (%)	0,5 - 2	0,2 - 1
Frutose (%)	0,5 - 1,5	0,2 - 1
ART (%)	12 - 17	15 -24
Amido (%)	Até 0,5	0,001 - 0,05
Água (%)	84	75 – 88

Fonte: Barcelos (2012).

Segundo Costa (2013) as concentrações de açúcares diretamente fermentescíveis no caldo de sorgo sacarino são bastante favoráveis a produção de etanol, podendo aumentar através da adição de enzimas para inversão do amido presente, que confere viscosidade ao caldo, reduzindo a recuperação de açúcares na fermentação.

Segundo Rossell (2011) a planta de sorgo sacarino apresentada na Tabela 2.3 a composição percentual média de grãos, caldo e bagaço elencando pontos positivos de uma matéria-prima com potencialidades para produção de etanol de primeira e segunda geração.

**Tabela 2.3.** Composição percentual média dos grãos, caldo e bagaço de sorgo sacarino.

<b>Grão (% base úmida)</b>		<b>Caldo (% base úmida)</b>		<b>Bagaço (% base seca)</b>	
Amido	70,1	Sólidos solúveis	18	Celulose	38,5
Proteínas	11,2	Sacarose	8,5 - 12,4	Hemicelulose	21,4
Umidade	11,6	Glicose	2,1	Lignina	17,6
Fibras	1,82	Frutose	1,2	Proteína	1,1
Lipídeos	3,54	Amido	0,5	Extrativos	13,7
Cinzas	1,8	Água	84	Cinzas	3,7

Fonte: Wu et al. (2007); Rossell (2011); Panagiotopoulo et al. (2010).

O sorgo sacarino já é fonte de produção de etanol em países como Índia, China, Austrália e África do Sul e considerando o meio oeste americano sendo uma das apostas para substituição do milho na produção de etanol nos EUA. Na União Europeia projetos tem sido realizado para produção de etanol a partir de sorgo em países como: Grécia, Espanha, Reino Unido, Portugal, Itália e Alemanha visando o cumprimento de diretrizes da comunidade europeia de redução na utilização de combustíveis fósseis (JASSEN e JIM, 2010).

### **2.3.1. Sorgo - Melhoramento genético**

Países como México, Nigéria, EUA e Sudão por serem os maiores produtores de sorgo granífero do mundo, investem muito em programas de melhoramento genético, através de pesquisas, estudos, banco de germoplasma, visando produzir cultivares que possuam maiores valores nutricionais, melhor qualidade e desenvolvimento (MAXIAGRO, 2014).

No Brasil, a Embrapa Milho e Sorgo, vem desenvolvendo trabalhos visando a introdução, adaptação e o desenvolvimento de cultivares, principalmente de sorgo granífero, forrageiro e sacarino com alto rendimento e tolerância a condições de estresses bióticos e abióticos. Trabalhos estes que possibilitam a obtenção e o lançamento de cultivares com valores agregados que permitem melhor desempenho da cultura nas condições predominantes de cultivo das regiões produtoras (EMBRAPA, 2009).

Através do Programa de Melhoramento Genético do Sorgo (PMGS) da EMBRAPA o sorgo sacarino vem sendo amplamente estudado para a produção de etanol de primeira e de segunda geração, obtendo novas variedades e híbridos dessa matéria-prima com o objetivo de aumentar a capacidade de produção do álcool etílico (GOMES et al., 2011).

Na busca por novas variedades e híbridos de sorgo sacarino, a Embrapa Milho e Sorgo, estabeleceu nos seus programas, metas de produtividade e qualidade apresentados na Tabela 2.4 que mostra a produtividade mínima de biomassa, extração mínima de açúcar total da biomassa, eficiência de extração, conteúdo mínimo de açúcar total no caldo, produção mínima de etanol na biomassa e o PUI - Período de Utilização Industrial (EMBRAPA, 2008).

**Tabela 2.4.** Metas de rendimento e qualidade de sorgo sacarino propostas para o programa de melhoramento de sorgo sacarino da EMBRAPA.

<b>Metas e rendimentos na qualidade do sorgo sacarino</b>			
Características	Alvo mínimo		
	1975	2011	Atualidade/Futuro
Rendimento mínimo de biomassa	40	50 - 60	80
t ha <sup>-1</sup> mês <sup>-1</sup>	(10)	(12 - 15)	20
Brix mínimo (°Brix)	16 - 17	18 - 19	20 - 22
Pico do Brix (°Brix)	21	23	23
Mínimo de extração de açúcares totais (Kg t <sup>-1</sup> biomassa)	80	100 - 120	120 - 150
Eficiência de extração (%)	60 - 65	90 - 95	95
Teor mínimo de açúcar total no caldo (%)	12,5	14	14 - 16
Rendimento mínimo de álcool (L t <sup>-1</sup> de biomassa)	40	60 - 70	70 - 85
Eficiência de fermentação (%)	90	95	95
Eficiência de destilação (%)	90	95	95
Eficiência industrial (%)	81	90	90
Período de utilização da indústria (dias)	30	30	30
Tipos de cultivar	Variedade	Variedade	Variedade e híbridos
<b>Parâmetros agronômicos e industrial</b>			

Fonte: Schaffert e Parrella (2012).

O Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) seguindo os moldes do programa de melhoramento genético desenvolvido pela Embrapa Milho e Sorgo, vem desenvolvendo pesquisa de melhoramento e desenvolvimento de novas variedades de sorgo sacarino voltadas à adaptabilidade para regiões do nordeste brasileiro, resistentes a ataques de pragas, aos baixos índices pluviométricos (estresse hídrico) e a salinidade do solo (REIS et al., 2006).

## 2.4. Etanol de 1ª geração

O etanol é produzido a partir da fermentação das matérias-primas açucaradas, onde se costuma distinguir as diretamente fermentáveis e as não diretamente fermentescíveis, sendo a primeira as que contêm monossacarídeos e dissacarídeos e não precisam de nenhum tratamento para ser absorvida e transformada em etanol pelos microrganismos, a exemplo tem-se as trioses, tetroses e hexoses, incluindo nesta categoria a eritrose (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>), glicose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) e frutose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>) e as não

diretamente fermentescíveis compostas por sacarose, maltose e lactose ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) e rafinose ( $C_{18}H_{32}O_{16}$ ) que passam por um processo de inversão, que se realiza naturalmente por ação da invertase, enzima produzida pelo agente de fermentação, sendo o dissacarídeo sacarose o representante mais importante dos componentes da cana-de-açúcar e dos melaços (LIMA et al., 2012).

As matérias-primas que produzem açúcares diretamente fermentáveis, de onde se obtém o principal componente da matriz brasileira de biocombustíveis, destaca-se a cana-de-açúcar, além da beterraba açucareira ou sacarina, melão de cana-de-açúcar sempre disponível como subproduto da produção de açúcar e o sorgo sacarino (CARDONA e SÁNCHEZ, 2007). A Tabela 2.5 apresenta a composição de algumas matérias-primas sacarídeas empregadas para a produção de etanol.

**Tabela 2.5.** Composição percentual média de matérias-primas sacarídeas

	Caldo de Cana-de-açúcar	Melaço de Cana-de-açúcar	Caldo de Sorgo sacarino	Beterraba sacarina
<b>Água</b>	75 – 88	17 - 25	84	82
<b>Sacarose</b>	10 – 21	30 - 40	8,5 - 12,4	12,4
<b>Frutose</b>	0,3 - 2,5	5 - 12	1,2	-
<b>Glicose</b>	0,3 - 2,5	4 - 9	2,1	-
<b>Amido</b>	0,001 - 0,05	-	0,5 - 1,0	0,3
<b>Proteínas</b>	0,5 – 06	-	-	-

Fonte: Rossell (2011)

Segundo o ISSAAS (2007), o processo de produção de etanol de 1ª geração a partir do caldo sorgo sacarino é similar ao processo fermentativo de caldo de cana-de-açúcar.

Os rendimentos de etanol em caldo de sorgo e de cana-de-açúcar podem ser observados na Tabela 2.6.

**Tabela 2.6.** Rendimento em colmos, caldo e etanol de caldo de cana-de-açúcar e caldo de sorgo sacarino

<b>Parâmetros</b>	<b>Colmos (t ha<sup>-1</sup>)</b>	<b>Caldo (L t<sup>-1</sup>)</b>	<b>Etanol (L ha<sup>-1</sup>)</b>
Cana-de-açúcar	75 - 90 a	600 a	5.600 - 6.500 b
Sorgo sacarino	35 - 75 a	700 b	3.500 - 5.600 c

Fonte: a – Emydio et al. (2011); b - Souza et al. (2005); c – Yu et al.(2010)



#### **2.4.1 Pré-tratamento de caldo**

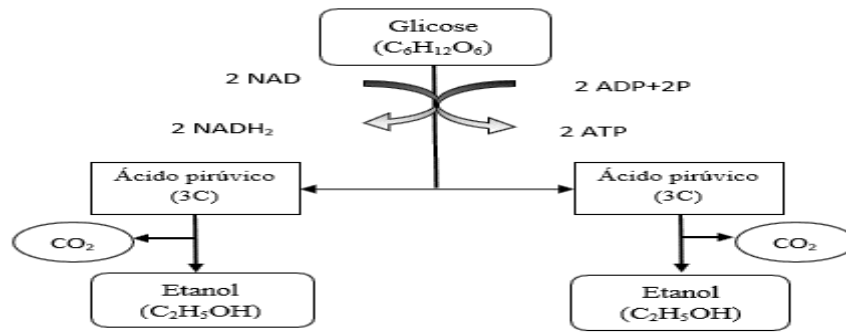
Para se ter início a produção de etanol de 1ª geração, se faz necessário o pré-tratamento no caldo, que se divide em quatro fases, tratamento físico que consiste na remoção das impurezas grosseiras (peneiramento), físico-químico ajuste do pH, propicia a aglomeração das partículas menores em partículas de dimensões maiores, e o tratamento térmico que objetiva acelerar as reações de coagulação e floculação dos colóides e não açúcares proteicos, redução da carga microbiana que podem infectar e ou concorrer com as leveduras no processo de fermentação, além de possibilitar a remoção do ar e dos gases dissolvidos (OLIVEIRA, 2010). O tratamento de caldos por aquecimento também proporciona a redução da viscosidade e densidade do caldo e acelera a velocidade das reações químicas, agrupando as impurezas na forma de pequenos “flocos”. Os sais formados são insolúveis a altas temperaturas, possibilitando sua decantação (SILVA et al., 2008). Segundo Oliveira (2010) após o tratamento térmico, o caldo passa pelo processo de floculação ou decantação (clarificação), que é a etapa de purificação do caldo pela remoção das impurezas floculadas nos tratamentos anteriores, seguindo assim para etapa de filtração e fermentação.

#### **2.4.2. Fermentação alcoólica**

A fermentação é um processo bioquímico, no qual os microrganismos convertem os açúcares em etanol e CO<sub>2</sub>. O processo consiste na conversão do dissacarídeo em piruvato que sofre uma descarboxilação reduzindo o acetaldeído formando o etanol (NELSON e COX, 2011), sendo alguns compostos orgânicos tais como glicerol, ácido succínico, álcoois amílico e isoamílico são produzidos em menor quantidade e também são considerados produtos secundários da fermentação alcoólica (MUTTON, 2008).

Segundo Ferrari (2013) o processo biológico da fermentação alcoólica, se dá a princípio pela reação de oxidação parcial, e a energia obtida pode ser empregado para o crescimento das leveduras e a oxidação parcial anaeróbia da hexose na produção de álcool e CO<sub>2</sub> ou seja o processo é baseado na quebra do açúcares possibilitando a formação de duas moléculas de ácido pirúvico, que posteriormente são convertidas em etanol devido a liberação de duas moléculas de gás carbônico e a formação de duas moléculas de ATP, como se apresenta a Figura 2.3.

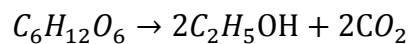
**Figura 2.3.** Processo de fermentação alcoólica



Fonte: Autor (2015)

Ferrari (2013) cita que é observado por meio da reação global da glicólise que 1 mol de glicose (180 g) gera 2 moles de etanol (92 g) e 57 Kcal de energia. Dessa forma é possível analisar o rendimento teórico para a produção de etanol que é  $Y_{p/s} = 0,511$ . Na prática não se obtém esse valor, pois parte da glicose é convertida em glicerol e outros produtos. Abaixo encontra-se a reação global para a conversão de glicose em etanol.

Zimase



### 2.4.3. Crescimento microbiano

É considerado como crescimento em sistemas biológicos, quando ocorre um aumento de massa em decorrência de um acréscimo ordenado de todos os componentes do protoplasma. Assim, não podem ser considerados como crescimento os aumentos de tamanho em decorrência de fenômenos como absorção de água e ou acúmulo de material de reserva (BORZANI et al., 2008).

O crescimento microbiano pode ser avaliado pelo aumento da massa celular ou pelo número de células, resultando em uma série de eventos coordenados e enzimaticamente catalisados. As condições ótimas para um crescimento microbiano, se dá a partir do transporte dos nutrientes necessários, como as fontes de carbono, vitaminas, nitrogênio e sais minerais, que é transferido às células e das condições ambientais do sistema de produção, como temperatura e pH, que devem ser mantidos em seus valores durante a fermentação (FALANGHE, 1975).

Ao inocular o microrganismo no meio de cultura favorável ao seu crescimento, observa-se o comportamento da concentração celular, que se dividem em sete fases: (HISS, 2001):

- Fase 1: latência ou lag, que segue no instante à inoculação com o microrganismo de interesse ao meio de cultura. Este é um período de adaptação, durante o qual a célula sintetiza enzimas necessárias ao seu crescimento. Esta fase não há reprodução celular;
- Fase 2: transição, onde se observa o lento início gradual da reprodução microbiana;
- Fase 3: logarítmica ou exponencial, momento em que a velocidade é de crescimento máximo;
- Fase 4: reprodução constante ou linear de crescimento;
- Fase 5: desaceleração com o esgotamento dos nutrientes do meio de cultura e acúmulo de inibidores;
- Fase 6: os nutrientes ficam escassos e os produtos tóxicos proveniente da fermentação vão se tornando mais abundantes no meio. Nesta etapa, não há crescimento da população, onde o número de células que se dividem é igual ao número de células que morrem;
- Fase 7: declínio ou lise, consiste na velocidade de morte, sendo esta maior que a velocidade de produção de novas células. Chegando ao número de indivíduos mortos superar o número de novos indivíduos (BORZANI et al., 2008).

## **2.5. Etanol de 2ª geração**

Para obtenção de etanol de segunda geração, são utilizadas tecnologias a partir de materiais lignocelulósicos, envolvendo diversas etapas a começar pelos pré-tratamentos, hidrólise dos polissacarídeos da biomassa em açúcares fermentáveis e sua posterior fermentação. Para Pereira Jr. et al. (2008), o processo de hidrólise utiliza tecnologias complexas, com base no pré-tratamento do material lignocelulósico que serve para reduzir sua recalcitrância, e logo após o uso de enzimas para a separação dos açúcares e remoção da lignina.

### **2.5.1. Matéria-prima celulósica – Biomassa**

A necessidade de fontes de energia renováveis e alternativas ao uso do petróleo está mobilizando internacionalmente de forma conjunta os setores acadêmicos,

industriais, sociais e governamentais com ênfase no desenvolvimento de processos biotecnológicos eficazes e de menor impacto ambiental (PEREIRA Jr. et al., 2008).

Segundo Sheehan (2009), para atingir os objetivos de desenvolvimento sustentável, as biorrefinarias devem exercer papel dominante neste atual milênio. Neste contexto, para que possa desenvolver tecnologias alternativas de geração de energia que reduzam a dependência das fontes fósseis, diversos pesquisadores demonstram interesse em fontes disponíveis renováveis e menos poluentes (CANACKI e SANLI, 2008).

As biomassas vegetais são candidatas bastante atrativas para desempenhar tal papel, já que são consideradas as únicas fontes orgânicas sustentáveis para produção de combustíveis líquidos. Conforme Zhang (2008) esta é uma fonte renovável, abundante e de baixo custo que, direta ou indiretamente, é produzida pela fotossíntese, fixando o carbono da atmosfera em carbono residente através da formação dos carboidratos presentes na composição da biomassa.

Segundo pesquisas realizadas por Sene et al. (2011), a palha de sorgo possui em sua composição química parcial 34% de celulose, 44% de hemicelulose e 20% de lignina.

A caracterização do bagaço do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench, encontra-se apresentada na Tabela 2.7. para material lignocelulósico realizada tanto no bagaço lavado como no bagaço não lavado mostra que os teores não divergiram (OLIVEIRA et al., 2009).

**Tabela 2.7.** Caracterização físico-químico do bagaço do sorgo sacarino.

<b>Caracterização</b>	<b>Bagaço lavado</b>	<b>Bagaço não-lavado</b>
°Brix (%)	16,5	16,5
Densidade aparente (g/cm <sup>3</sup> )	0,125	0,125
Cinzas (%)	1,8 ± 0,2	1,6 ± 0,2
Umidade (%)	7,4 ± 0,2	7,7 ± 0,2
pH (%)	5,4 ± 0,02	5,5 ± 0,03
AR (%)	8,7 ± 0,2	8,8 ± 0,9
ART (%)	16,6 ± 3,4	16,3 ± 1
Celulose (%)	42,3% ± 4,3	42,3% ± 4,3
Lignina (%)	16,54% ± 0,3	16,54% ± 0,3

Fonte: Oliveira et al. (2009).

## 2.5.2. Principais fontes de resíduos lignocelulósicos

Podendo ser empregada em bioprocessos para a produção de diversos produtos de valor agregado, a biomassa vegetal constitui uma fonte de energia limpa, neste contexto, o mercado para os produtos derivados da biomassa vegetal inclui alimentos, combustível e insumos químicos em geral (USD, 2009).

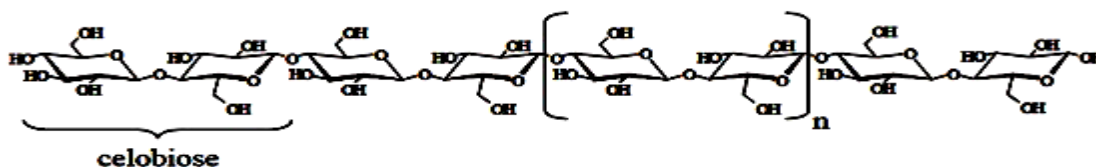
Os resíduos lignocelulósicos são constituídos basicamente de carboidratos polimerizados (hemicelulose, celulose e lignina), com pequenas quantidades de sais minerais e extrativos. Sendo necessária a ruptura do complexo lignina-celulose-hemicelulose ou a remoção de cada fração por técnicas de pré-tratamento e deslignificação para que possam ser utilizados como substratos em processos microbianos visando à produção de produtos de valor agregado. (ROCHA e SILVA, 2006).

## 2.5.3. Celulose

Presente nos materiais lignocelulósicos a celulose ( $C_6H_{10}O_5$ ) é o principal componente da parede celular das fibras vegetais, sendo o constituinte mais abundante é um homopolímero linear de elevado peso molecular contendo como unidade fundamental exclusivamente a  $\beta$ -D-glicose unida entre si, formando a estrutura dissacarídica chamada celobiose, apresenta-se como estrutura microcristalina que dificilmente se dissolve ou hidrolisa em condições naturais (MUSSATO e TEIXEIRA, 2010). As cadeias de celulose estão interligadas por pontes de hidrogênio e Van der Waals, resultando em microfibrilas com alta resistência a tração, sendo assim as moléculas de celulose, possuem diferentes orientações, levando a diferentes níveis de cristalinidades. A celulose consiste em duas regiões, uma amorfa e outra cristalina. A cristalinidade da celulose pode ser medida pela técnica de DRX e quanto maior o índice de cristalinidade mais difícil será a biodegradação da celulose (Zheng et al., 2014). A

Figura 2.4, apresenta a estrutura da cadeia linear da celulose.

**Figura 2.4.** Cadeia linear da celulose



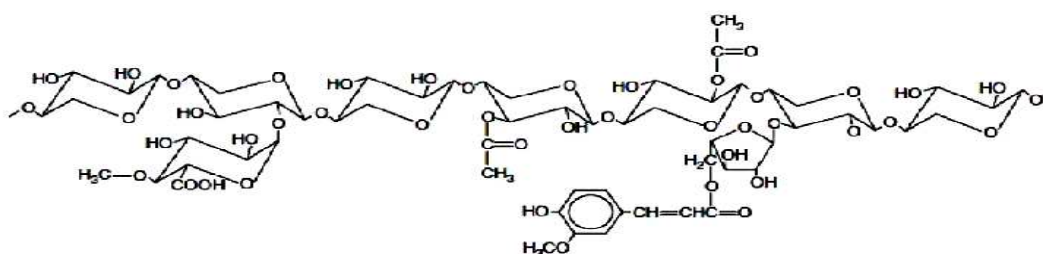
Fonte: Timár-Balázsy e Eastop (1998)

#### 2.5.4. Hemicelulose

Diferentemente da celulose as hemiceluloses são mais amorfas e ramificadas, sendo mais susceptíveis aos tratamentos biológicos, químicos e físicos, são polissacarídeos heterogêneos aleatórios. As cadeias curtas e ramificadas das hemiceluloses ajudam a construir uma rede com as microfibrilas da celulose e integram com a lignina, tornando uma matriz extremamente rígida (ZHANG e LYND, 2004).

Um dos principais compostos estruturais da parede celular dos vegetais, tendo função conectora entre as fibrilas de celulose e a lignina, conferindo maior rigidez à rede estrutural (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009). A Figura 2.5, apresenta a estrutura da hemicelulose (xilana) de plantas anuais e perenes.

**Figura 2.5.** Estrutura da hemicelulose



Fonte: Spiridon e Popa (2008).

#### 2.5.5. Lignina

A lignina, depois da celulose, representa a macromolécula orgânica mais importante e abundante dentre as matérias lignocelulósicas, conferindo rigidez, impermeabilidade, resistência a degradação oxidativa e a ataques de microrganismos (AGBOR et al., 2011). Segundo Zheng et al. (2014) a lignina é uma substância que vai sendo incorporada durante o crescimento vegetal.

A lignina constitui 10-20% em peso da biomassa seca, é um polímero aromático que contém resíduos fenólicos, formada a partir de três precursores básicos: dos álcoois *p*cumarílico, coniferílico e sinapílico, a lignina é conforme ilustrado na Figura 2.6. Encontrada na parede celular de todas as plantas vasculares, sendo um polímero fenólico, derivada de álcoois aromáticos que têm por função em conferir rigidez, e impermeabilidade à água, além de conferir resistência mecânica e microbiológica aos tecidos vegetais (MORAIS et al., 2010).

**Figura 2.6.** Compostos da lignina



Fonte: Mousdale (2008)

### 2.5.6. Pré-tratamento de materiais lignocelulósicos

Os materiais lignocelulósicos apresentam em sua constituição, celulose, hemicelulose e lignina. As estruturas apresentadas dificultam o acesso de microrganismos em processos biológicos na disponibilização dos açúcares para posterior fermentação e produção de etanol de segunda geração, porém os processos de pré-tratamentos eficientes são necessários para que na etapa da hidrólise haja uma produtividade máxima de açúcares e ao mesmo tempo, qualquer perda de açúcar minimizado (JOGERSEN et al., 2007). A etapa de pré-tratamento da biomassa se torna a fase mais importante no processo de produção de bioetanol, pois a etapa visa solubilizar e separar os compostos da biomassa vegetal (SARKAR, 2012). Com objetivo de remover a lignina e a hemicelulose, solubilizando e/ou degradando-os, reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar a porosidade do material lignocelulósico o pré-tratamento deve ser aplicado (MOSIER et al., 2005), de forma que não ocorra grande formação de compostos inibidores de fermentação, além de aumentar a exposição da celulose aos processos de hidrólise e consequente liberação dos açúcares.

Silverstein et al. (2007) citam que o uso de ácidos diluídos em pré-tratamentos de resíduos lignocelulósicos, como sulfúrico, nítrico, acético e clorídrico, empregados como catalisadores tem sido a melhor forma de pré-tratamento para resíduos agroindustriais. O material lignocelulósico é misturado a um ácido diluído em água - catalisador - e aquecido durante certo tempo da pré-hidrólise. Neste período grupos acetil, ligados à hemicelulose, são fragmentados e exercem atividade como catalisadores da hidrólise.

Os pré-tratamentos aumentam a digestibilidade e a bioconversão da biomassa, mas a deslignificação do material varia conforme o pré-tratamento escolhido. Na Tabela 2.8, estão apresentados alguns tipos de pré-tratamentos empregados, o efeito que geram sobre o material que se deseja trabalhar e suas operações.

**Tabela 2.8.** Métodos de pré-tratamentos de materiais lignocelulósicos.

	Método	Vantagens	Desvantagens
Físico	Pulverizado mecânico (moagem e trituração); Pirólise; Vapor; Radiação; Umidificação	✓ Reduz o tamanho da partícula ✓ Reduz a cristalinidade	✓ Alto gasto energético ✓ Não retira a lignina
Físico-químico	Explosão a vapor; Hidrotérmico; AFEX – explosão das fibras com amônia; Explosão com CO <sub>2</sub> ; SO <sub>2</sub> com vapor; NO <sub>2</sub> e irradiação	✓ Ruptura das ligações de lignina e hemicelulose Altos rendimentos de glicose e xilose ✓ Redução da partícula da biomassa	✓ Perdas de hemicelulose no <i>slurry (licor)</i> ✓ Uma etapa adicional é necessária para remover a lignina
Biológico	Bolor branco ( <i>Pleurotus</i> , <i>Pycnoporus</i> , <i>Ischnoderma</i> , <i>Phlebia</i> , etc); Biorganosolv (tratado com <i>Ceriporiopsis subvermispora</i> seguido de etanólise)	✓ Baixa energia requerida, condições brandas ✓ Remove quantidade considerável de lignina	✓ Maior tempo de residência ✓ Menor rendimento pelo consumo de carboidrato pelos fungos
Químico	Ozonólise; Processo organosolv; Deslignificação oxidativa; Hidrólise alcalina; Hidrólise com ácido diluído; Hidrólise com ácido concentrado; SO <sub>2</sub> ; Ácido acético	✓ Bom rendimento de glicose e xilose (hidrólise de 80 a 95% da fração hemicelulósica) ✓ Elevada reatividade da fibra	✓ Formação de produtos de degradação ✓ Concentração baixa de açúcar na corrente de saída ✓ Necessidade de equipamentos especiais ✓ Necessidade da neutralização do hidrolisado para subsequente fermentação

**Fonte:** Adaptado de Ogeda e Petri (2010), de Saddler et al. (1996) e Sanchez e Cardona (2008).

Entre os pré-tratamentos citados, o que utiliza ácido concentrado, é o de menor interesse, pois são necessários equipamentos resistentes a condições extremas, além de ocorrer a produção de subprodutos tóxicos e a ação inibitória dos processos posteriores



a seguir como enzimático e do crescimento celular por compostos como furfural, HMF e ácido acético, etapas estas posteriores ao pré-tratamento, essenciais para a obtenção do etanol com alto rendimento (OGEDA e PETRI, 2010).

### **2.5.6.1. Hidrólise ácida**

Como um tratamento químico, o pré-tratamento com ácidos diluídos consiste em uma hidrólise dos açúcares presentes na fração hemicelulósica de materiais lignocelulósicos, dentre os diferentes métodos de pré-tratamento, o uso de ácido diluído (sulfúrico, nítrico ou clorídrico) tem se mostrado eficiente de forma rápida e simples, sendo citado como o melhor tipo de pré-tratamento para resíduos industriais (SILVERSTEIN et al., 2007; RAMOS, 2003; PARAJÓ et al., 1998). Apresenta vantagens como uma técnica para minimização da formação de produtos de degradação e aumento da susceptibilidade da celulose ao processo de hidrólise enzimática subsequente, desde que as condições de hidrólise sejam otimizadas (SILVA et al., 2005). Segundo Jorgensen et al. (2007), trata-se de uma tecnologia amplamente reportada na literatura, testada em escala piloto e com potencial de aplicação em escala industrial.

São utilizados basicamente dois tipos de tratamento ácido diluído: em baixa temperatura (inferior a 161 °C) em processo por batelada e alto teor de sólidos (10 – 40%) e em elevadas temperaturas (superiores a 161 °C) com processo de fluxo contínuo para baixa concentração de sólidos (5 a 10% de peso de substrato por peso de mistura de reação). A hidrólise ácida diluída em condições menos severas pode atingir altas taxas de conversão de xilanas em xilose; já quando altas temperaturas são empregadas, a hidrólise da celulose é favorecida (MCMILLAN, 1994). O emprego de hidrólise ácida diluída apresenta várias vantagens quando comparada à utilização dos ácidos concentrados (SUN e CHENG, 2002). Ácidos concentrados são perigosos, tóxicos, corrosivos, requerendo reatores resistentes à corrosão. Além disso, a fim de tornar o processo economicamente viável, os ácidos concentrados devem ser recuperados após o processo de hidrólise (SIVERS e ZACCHI, 1995).

Um fator importante a ser considerado é que durante a hidrólise ácida diluída, dependendo das condições empregadas, compostos secundários dos açúcares e da lignina podem ser gerados, inibindo o crescimento de micro-organismos fermentadores que serão utilizados posteriormente a esta etapa (MUSSATO e ROBERTO, 2004).

### **2.5.6.2. Inibidores da fermentação**

A utilização de pré-tratamentos ácidos, em condições de altas temperaturas, podem ocasionar a formação de produtos inibitórios à fermentação, devido à degradação dos açúcares e da lignina, induzindo assim à produção de ácidos orgânicos (DRABER, 2013).

Segundo Draber (2013) a degradação das pentoses (glicose) gera o furfural e da degradação das hexoses (xilose) surge o 5- hidroximetilfurfural (HMF), ambos inibidores, que ao se degradarem resultam em ácido fórmico e levulínico, que são problemáticos para o processo de fermentação. Os inibidores prejudicam a fermentação e a hidrólise enzimática, pois inibem os microrganismo e enzimas (SANTOS et al., 2012). Dessa forma o pré-tratamento ácido deve ser realizado visando minimizar a formação desses compostos inibitórios.

### **2.5.6.3. Hidrólise alcalina**

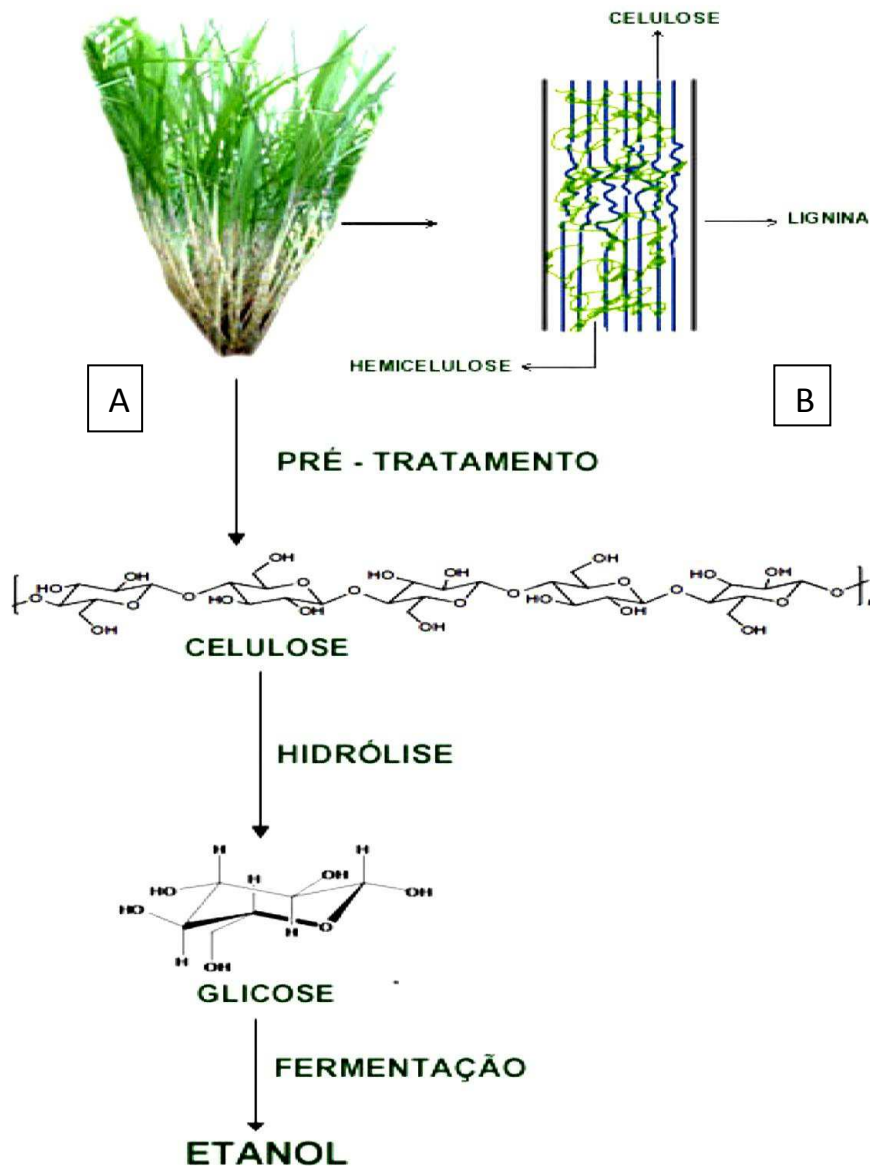
A aplicação de soluções alcalinas remove grande parte da lignina, por meio do rompimento das ligações estruturais, melhorando a reatividade dos polissacarídeos remanescentes (MOSIER et al., 2005), sendo o hidróxido de sódio um dos mais efetivos agentes alcalinos e tem sido utilizado para tratar diversos tipos de materiais lignocelulósicos (SOTO et al., 1994).

Efetivo na remoção de lignina, este tipo de pré-tratamento não hidrolisa a hemicelulose tão efetivamente quanto pré-tratamentos que utilizam ácidos, porém traz um aumento na digestibilidade enzimática do material (HIMMEL et al., 2008). A característica do pré-tratamento alcalino com NaOH auxilia na remoção da lignina sem afetar muitos outros componentes (BALAT et al., 2008). Segundo Nascimento (2011), em estudo utilizando pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar (NaOH a 7% por 30 min em 120 °C) deslignificação do material, obteve resultado em 5% de lignina na biomassa, teor de celulose em torno de 38%, garantindo assim um alto conteúdo acessível de celulose para a degradação enzimática, com uma conversão em torno de 75,5% (hidrólise) com rendimento em etanol de 90%.

Kim e Yun (2005), citam que a grande maioria dos estudos realizados com pré-tratamento empregando agentes básicos como o NaOH utilizaram temperaturas superiores a 100 °C. Entretanto, reagentes alcalinos como amônia, tem demonstrado

serem mais promissoras trabalhando com temperaturas mais baixas (55 °C), porém sendo requerido um maior tempo de processamento. Com relação ao pré-tratamento ácido Moiser et al. (2005) citam que a maior parte da hemicelulose é removida; porém a remoção da lignina ocorre de maneira limitada, ilustrada na Figura 2.7.

**Figura 2.7.** Representação esquemática da produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica “A” após pré-tratamento “B”



Fonte: Ripoli (2004).

### 2.5.7. Hidrólise enzimática

Tem sido comum o uso de enzimas para obtenção de açúcares fermentescíveis a partir de matérias lignocelulósicos, sendo uma rota promissora na produção de etanol celulósico. As enzimas são catalisadores biológicos com alta massa molecular e podem ser produzidas por uma ampla variedade de fungos e bactérias. E dentre a grande variedade de enzimas, a celulase é a específica no uso para conversão de matérias lignocelulósicos em glicose.

A hidrólise enzimática é dependente de muitos fatores intrínsecos e extrínsecos como, por exemplo: inibição da atividade enzimática por produtos finais da biodegradação (furfural, hidroximetilfurfural e ácido acético), tipo de substrato pré-tratado, termoestabilidade das enzimas, pH do meio, concentração de substrato no meio, duração da hidrólise, suas concentrações e adsorção no substrato e a taxa de agitação deste (HAHN-HAGERDAL et al., 2006).

Gan et al. (2003) citam que a adsorção de celulase na celulose insolúvel já foi descrita como reversível, irreversível e semi-reversível, não se tendo chegado a um acordo quanto à questão. A adsorção das celulases e a concepção do complexo enzima/substrato são apreciadas como os passos cruciais na hidrólise enzimática de celulose. Na Tabela 2.9 estão apresentadas as enzimas do complexo celulósico e seu modo de ação.

**Tabela 2.9.** Enzimas do complexo celulósico e seu modo de ação.

Enzima	Código EC	Sinônimo	Modo de ação
Endo-(1-4)- $\beta$ -D-glucanase	EC 3.2.1.4	Endoglucanase	$\begin{array}{c} \text{-G-G-G-G-} \\ \uparrow \quad \uparrow \\ \text{Cliva aleatoriamente} \\ \text{na cadeia de celulose} \end{array}$
Exo-(1-4)- $\beta$ -D-Glucanase	EC 3.2.1.9.1	Celobiohidrolase ou esoglucanase	$\begin{array}{c} \text{G-G-G-G-G-} \\ \uparrow \\ \text{Libera celobiose de} \\ \text{extremidades} \\ \text{redutoras e não} \\ \text{redutoras} \end{array}$
B-glicosidase	EC 3.2.1.7.1	Celobiase	$\begin{array}{c} \text{G-G} \quad \text{G-G-G-G} \\ \uparrow \quad \uparrow \\ \text{Libera glicose a partir} \\ \text{de celobiose e de} \\ \text{pequenos} \\ \text{oligossacarídeos} \end{array}$

Fonte: BHAT e BHAT (1997)

Polímero insolúvel em meio aquoso, a celulose, necessita de enzimas do complexo celulósico em um sítio especial para sua adsorção na molécula, permitindo a ação catalítica chamado de domínio de ligação à celulose, presentes nas endoglucanases e exoglucanases (ZHANG e LYND, 2004).

Na hidrólise enzimática o catalisador, além de ser de origem biológica, realiza reações específicas ocasionando menores impactos ambientais, porém, deve ser levado em conta o maior tempo requerido para completar o processo, para maximizar seu processo de como é necessário controlar diversos parâmetros como temperatura e meio específico (OLIVEIRA e VASCONCELOS, 2011).

### **2.5.8. Fermentação**

Neste processo, os substratos lignocelulósicos pré-tratados e hidrolisados podem ser fermentados em produtos de interesse comercial mediante a ação de microrganismos viáveis (HARVEY et al., 2008). A fermentação pode ser conduzida em batelada, batelada-alimentada ou contínua nos meios hidrolisados de biomassa vegetal. A escolha mais adequada dependerá das propriedades cinéticas do agente fermentativo sobre o substrato e da viabilidade econômica do produto que se deseja obter (HAHN-HÄGERDAL et al. 2006).

Em processos combinados a hidrólise enzimática é ligada a diferentes rotas de fermentação. A biomassa recebendo o pré-tratamento se faz necessário para tornar a celulose mais acessível às enzimas, para posterior hidrólise da hemicelulose. As principais vias de combinação em desenvolvimento são dois processos bastante utilizados na atualidade a fermentação e hidrólise separada (HFS) e a fermentação e sacarificação simultâneas (FSS).

HFS – Hidrólise e fermentação separadas: são realizadas em reatores diferentes a produção de enzima, a hidrólise da celulose e hemicelulose e a subsequente fermentação da glicose e pentoses, respectivamente, apresentando a principal vantagem dessa configuração que todos os três processos podem ser tratados separadamente, minimizando, assim as interações entre eles (ROSILLO-CALLE et al., 2005). No processo as etapas de hidrólise e fermentação são conduzidas em suas condições ótimas, porém, apresenta a desvantagem do acúmulo de açúcares intermediários da hidrólise, causando a inibição das enzimas, e redução na conversão final de glicose, devido à

adsorção de parte do açúcar no sólido residual da hidrólise (CASTRO e PEREIRA Jr., 2010).

FSS – Fermentação e sacarificação simultânea: a hidrólise da celulose e a fermentação da glicose são realizadas em conjunto no mesmo reator, entretanto, a fermentação das pentoses continua se processando em reator separado. Visto que no processo SSF são agrupadas duas etapas em um mesmo recipiente reacional, contribui com menor custo de investimento a planta (projeto). Por causa da glicose liberada a ser concomitantemente fermentada nessa forma de condução, as enzimas são menos passíveis de inibição pelos produtos de hidrólise. A constante manutenção de níveis baixos na concentração de glicose e no meio também favorece o equilíbrio das demais reações de hidrólise, no sentido de aumentar a quantidade de produto, além de diminuir riscos de contaminação no sistema (CASTRO e PEREIRA Jr., 2010).

#### **2.5.9. Parâmetros cinéticos da fermentação**

Segundo Viegas (2003), o estudo da cinética de processos microbianos é de grande interesse para os mais diversos centros universitários e instituições de pesquisas, pois se objetiva quantificar a taxa de crescimento celular, de consumo de substrato, formação de novos produtos e demais parâmetros relacionados, além de avaliar a influência de fatores extrínsecos como pH, temperatura, inibidores (ácido acético, furfural, 5-hidroximetilfurfural e compostos fenólicos).

Para uma efetiva predição de uma cinética do processo fermentativo o fator tempo de fermentação pode variar consideravelmente e este fato impede uma programação eficiente e predeterminada nos substratos (RIVEROL e COONEY, 2007).

## 2.6. Estado da arte

Neste item serão abordados trabalhos referentes aos estudos dos comportamentos agronômicos (avaliação de campo), produção do etanol de 1ª geração do caldo de cana-de-açúcar e do sorgo sacarino, e para o bioetanol de 2ª geração, a utilização de pré-tratamentos e hidrólises dos bagaços de ambas fontes de origem.

Avaliando dados agronômicos referente a produção de biomassa, Oliveira (2014) trabalhando com progênies F6 de sorgo sacarino promissoras para a produção de etanol na Zona da Mata de Pernambuco obteve dentre as 65 progênies de sorgo sacarino pesquisadas, 10 progênies com produção média para produção de matéria verde total (colmo, panícula e folhas) entre 37,6 e 30,1% e de matéria seca entre 34,8 a 54,2 t ha<sup>-1</sup>. Nagai (2012) trabalhando com o potencial de cultivares de sorgo como fonte alternativa de biomassa para a produção de etanol no município de Itambe, PE, avaliou em campo as interações significativas entre as produtividades de biomassa total, de colmo, folha e panícula e as respectivas épocas de plantio. Nestas variáveis, as produtividades obtidas a partir do plantio realizado no período de inverno, diferiram significativamente das produtividades obtidas quando o plantio foi realizado nas demais épocas do ano. O plantio mais cedo, resultou nas maiores produtividades de matéria verde total (colmo, panícula e folhas), com destaque para IPA 467-4-2 e SF15, e nas produtividades de matéria verde de colmo, com destaque para a IPA 467-4-2, com superioridade de 28,25% e 49,23% em relação a SF 15 e BRS506 com valores entre 10,53 e 16,49%, respectivamente.

Em avaliações de campo, Pacheco et al. (2014) obtiveram valores para °Brix na colheita entre 12,50, 14,20; 15,00; 16,10; 17,1% em cinco variedades de sorgo sacarino estudadas, Pereira Filho et al. (2013) encontraram valores para °Brix na colheita, avaliando as cultivares BRS501 e BRS505, que apresentou resultados entre 16,04 e 15,93%, respectivamente. Observando o parâmetro para °Brix na colheita em cultivar de sorgo sacarino da variedade Wray, Tsuchihashi e Goto (2004) obtiveram valor inferior a 15,6 °Brix.

Os dados de campo para etanol teórico obtidos pela EMBRAPA (2012) trabalhando com variedades de sorgo sacarino BRS511, BRS509, BRS508 e BR506 obteve valores em 4.352,51, 3.695,64, 3.506,07, 2.062,35 e 2.045,23, porém ZHAO et al. (2009) ao avaliarem três épocas de corte em cinco cultivares de sorgo sacarino, após

o florescimento (0, 20 e 40 DAF), obtiveram rendimentos entre 1.281 L ha<sup>-1</sup> e 5.414 L ha<sup>-1</sup> de etanol teórico, valores estes abaixo dos encontrados pela EMBRAPA.

Galdino et al. (2013) trabalhando com caldo de sorgo sacarino variedade IPA 467-4-2 para obtenção de aguardente, encontraram valores de açúcar redutor inicial de 85,7 g L<sup>-1</sup>, °Brix no valor de 10,5% e pH variando entre 4 e 3,6.

Masson et al (2015) ao trabalharem com genótipo de sorgo sacarino CVSW80007 e cultivar de cana-de-açúcar RB96692, para produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar, encontraram os parâmetros para sólidos solúveis totais (°Brix) na cana-de-açúcar foi de 21,20 e no sorgo sacarino 19,23%, pH 5,20 e 2,86, AR entre 0,96 e 3,34%, ART entre 17,30 e 15,20. Ambos apresentavam valores de brix superiores a 15% e pH na faixa de 4,8 a 5,5, valores recomendados para o processamento. Considerando-se o processamento industrial, sabe-se que os teores de açúcares redutores totais (ART) são determinantes para a obtenção de elevado rendimento e produtividade. Nesse sentido, comparando-se as matérias-primas, observou-se que ambas apresentaram valores de ART do caldo superiores a 15%, considerados dentro de padrões aceitáveis para o processamento industrial da cana-de-açúcar. Após processo de fermentação dos caldos o autor encontrou valores para viabilidade celular para cana-de-açúcar entre 92,36 a 95,59% e para sorgo sacarino entre 89,48 e 93,33%.

Ferreira (2015) trabalhando com produção de etanol de 1ª geração a partir de três cultivares sorgo sacarino CV147; CV198 e BRS508 com tratamento enzimático, encontrou após pré-tratamento dos caldos valores para °Brix entre 15,2; 15,8 e 16,9% respectivamente e valores para ART 11,47; 12,05 e 12,09% respectivamente. Para ART não houve alteração significativa de valores após a adição de alfa amilase. O aumento dos valores do Brix no do caldo tratado, pode ser justificado devido a hidrólise das moléculas de amido, em açúcares que são solúveis em água, contribuindo para o aumento do Brix, que quantifica todos os sólidos solúveis. No processo fermentativo o autor observou que no presente estudo os genótipos apresentaram comportamento similar na viabilidade do inóculo, a inicial e a final do processo fermentativo. Esta característica é importante uma vez que no processo fermentativo é necessário o crescimento em massa da levedura para que a viabilidade celular se mantenha alta e haja o reciclo das células. Os valores médios obtidos na produção de etanol dos colmos limpos com enzima a partir dos genótipos sorgo sacarino CV147; CV198 e BRS508



ficaram entre 45; 47 e 49 L.Mg<sup>-1</sup> respectivamente, apresentando o genótipo BRS508 maior produtividade de etanol em litros por tonelada de sorgo processado.

Pacheco et al. (2014) ao avaliarem o bagaço e biomassa de 4 genótipos de sorgo sacarino, BRS506; BRS508; BRS509 e BRS511 para a produção de etanol celulósico, procederam pré-tratamentos adicionando-se ácido sulfúrico 1,5% (v/v) à biomassa e ao bagaço, numa razão sólido/líquido de 1/10. Esta suspensão foi mantida por 30 minutos em autoclave a 121 °C. Os valores da caracterização do material pré-tratados para celulose entre 32,81; 33,84; 36,50 e 33,76% respectivamente, os valores para hemicelulose foram entre 16,5 a 16,4%, valores para produção de glicose após hidrólise entre 30,68; 28,85; 32,44 e 31,45 g.L<sup>-1</sup>, com rendimento na conversão da hidrólise entre 56,31; 50,47; 53,83 e 54,09% respectivamente.

Campos et al. (2015), ao trabalharem com bagaço de sorgo sacarino encontraram no processo de caracterização para amostra *in natura* valores de 6,44% de umidade e para extrativos de 18%, após hidrólise encontraram concentrações de glicose em 16,71 g.L<sup>-1</sup> para o bagaço na condição *in natura* e 31,63 g.L<sup>-1</sup> para o bagaço pré-tratado com NaOH.

Trabalhando com hidrólise enzimática após pré-tratamento hidrotérmico em bagaço de cana-de-açúcar, Vasconcelos (2012) conseguiu liberação de glicose em uma maior intensidade em 24 h de hidrólise, chegando a alcançar concentrações maiores que 50% das atingidas ao final do processo hidrolítico (100 horas). Oliveira e Vasconcelos (2011) trabalhando com palha de cana-de-açúcar pré-tratada através de tratamento ácido diluído seguido de pré-tratamento básico a uma temperatura de 180 °C verificaram a conversão da fração celulósica através de hidrólise enzimática em 85% chegando a uma concentração máxima de glicose em 46,6 g L<sup>-1</sup>.

---

# Capítulo III

---

Material e Métodos

---

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Local da pesquisa**

Os experimentos desta pesquisa foram realizados nos Laboratórios de Engenharia Bioquímica (LEB) da Unidade Acadêmica de Engenharia Química (UAEQ) na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) no município de Vitória de Santo Antão, localizado na Zona da Mata de Pernambuco (lat: 35° 22' W, long: 08° 08' S, altitude: 146 m).

#### **3.2. Matéria-prima (caldo do sorgo)**

As matérias-primas utilizadas nesta pesquisa foram o caldo do colmo de sete cultivares do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e o resíduo (bagaço).

Os colmos das diferentes cultivares utilizadas na pesquisa foram gentilmente cedidos pelo Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), através de ensaio de campo para avaliação da produtividade de biomassa de cultivares de sorgo no município de Vitória de Santo Antão, PE, com precipitação pluviométrica média anual de 1.834 mm, concentrada no período de inverno entre os meses de abril a julho, e temperatura média de 28,1 °C.

As cultivares avaliadas foram: IPA SF15, IPA P228, IPA P134, IPA P222, IPA EP17, IPA 2502 e BRS506 sendo esta última, utilizada como parâmetro de controle por ser uma das variedades da Embrapa mais avaliadas em pesquisas, com níveis de açúcares diretamente fermentescíveis próximos aos da cana-de-açúcar. A colheita foi realizada 120 dias após o plantio, quando a planta encontrava-se em seu estágio de maturação.

##### **3.2.1 Avaliações agrônômica das diferentes cultivares de sorgo sacarino**

A avaliação foi realizada no período da colheita entre 05 de maio e 05 de junho de 2014, à medida que as plantas se encontrassem na fase de maturação fisiológica do grão (fase de grão leitoso-pastoso). Em áreas plantadas de vinte e cinco metros quadrados, foram colhidas as plantas da área útil (quatro metros centrais de cada área)

descartando um metro das fileiras da bordadura, evitando com isso influências externas como possíveis polinização indesejada que acarretassem contaminação das amostras, pesadas em balança de campo, apresentada na Figura 3.1. Todas as amostras foram identificadas e separadas, uma amostra de cinco plantas para a extração de caldo, cinco plantas para a determinações de peso, de folha, colmo e panícula e uma amostra de três plantas aleatoriamente para se proceder a aferição dos SST (°Brix).

**Figura 3.1.** A) Colheita e identificação, B) pesagem das variedades



Fonte: Autor (2015)

### **3.2.1.1. Produção de matéria verde e matéria seca (folha, colmo e panícula)**

Foram colhidas amostras das diferentes cultivares de sorgo sacarino, cinco plantas da área útil de cada parcela, pesando em balança digital e identificando separadamente cada variedade, separando cada parte (colmo, folha e panícula), colocando as mesmas em sacos de papel, procedendo o peso verde dos colmos, peso das folhas e peso das panículas, logo após foram colocados para secar em estufa de circulação forçada a 65 °C por 72 horas até atingir peso constante (BOARETTO et al., 1999), obtendo assim o peso seco, estimando-se o peso em tonelada por hectare, a produção de biomassa total de cada parcela.

### **3.2.1.2. Produção de colmo por hectare**

Partindo da porcentagem de peso verde dos colmos encontrados na amostra de 5 plantas de cada área útil, estima-se o peso em toneladas por hectare de colmos, referente a produção de biomassa total em cada parcela de 4 m<sup>2</sup>.

### **3.2.1.3. Teor de SST (°Brix)**

O teor de SST foi determinado com refratômetro portátil da marca A AG-1E - 0 a 32, realizando-se a retirada de três amostras aleatórias de cada área de 4 m<sup>2</sup>, utilizando o terço médio de cada planta, ao final fazendo uma média dos resultados aferidos.

### 3.2.1.4. Eficiência de extração de caldo

Para eficiência de extração de caldo, utilizou-se metodologia descrita por ABBRUZZINI (2011), separando e identificando cinco amostras de colmo das diferentes variedades trabalhadas de sorgo sacarino, pesando em balança digital a massa dos colmos e logo após fazendo a extração do caldo em uma moenda elétrica (Moenda de cana B-721 TURBO, rolos de ferro, motor 1,5 CV 220V - Maqtron), pesando o caldo em balança digital. A eficiência é encontrada a partir da relação de massa dos cinco colmos e a massa do caldo obtido, encontrado o valor em porcentagem.

### 3.2.1.5. Etanol teórico

Para avaliar a produção teórica de etanol, seguiu-se metodologia utilizada por Masson et al. (2015), que ao trabalharem com produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino seguido de caldo de cana-de-açúcar, usou a relação  $(\text{álcool teórico} \times 100)^{-1}$ , sendo o álcool teórico calculado, considerando que 100 g de ART produz 64,75 mL de etanol a 20 °C, e densidade do etanol em  $0,789 \text{ g cm}^{-3}$ , com base na equação estequiométrica de Gay-Lussac para a fermentação alcoólica.

## 3.2.2. Extração e pré-tratamento do caldo de sorgo

Após a colheita, foram removidas as panículas e folhas dos colmos, procedendo à extração do suco em sistema moenda de um terno e após cada extração a moenda era lavada com água corrente, Figura 3.2. Foram obtidos SST (°Brix), pH e açúcar redutor dos diferentes sucos de sorgo.

**Figura 3.2.** A) Colmo de sorgo limpo, B) Extração do caldo, C) Caldo filtrado



Fonte: Autor (2015)

Antes de serem empregados nos processos de fermentação, os caldos dos colmos das diferentes variedades de sorgo sacarino, passaram por alguns pré-tratamentos, como filtração para retirada das sujidades presentes no caldo após a moagem (palhiço e terra) e submetidos a um tratamento térmico de esterilização, utilizando autoclave vertical, modelo 103 FABBE a temperatura de 120 °C por 15 min, com objetivo de redução da carga microbiana, floculação e decantação, conforme apresenta a Figura 3.3. A metodologia segue a descrita por Caballos-Shiavone (2009) que para esterilização dos caldos em autoclave, utilizou temperatura de 120 °C e tempo de 15 min a uma pressão constante de 1 atm.

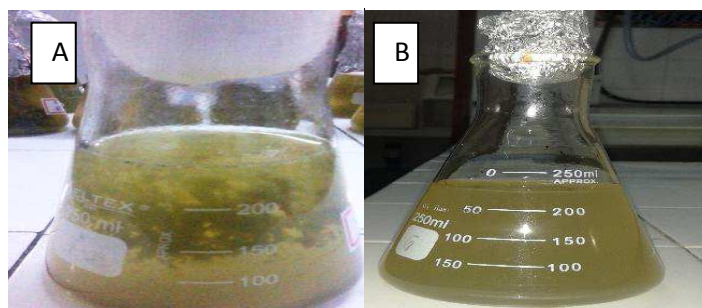
**Figura 3.3.** Caldo antes da esterilização (A), Esterilização (B), Filtração (C)



Fonte: Autor (2016)

Após resfriamento e decantação do caldo é possível observar na Figura 3.4 a floculação do material insolúvel, sendo assim feito uma segunda filtragem em filtro sinterizado 2 $\mu$  para retirada do material precipitado com o objetivo de clarificar o caldo, e uma nova caracterização foi realizada após tratamento térmico quanto SST, pH e ART. Os caldos foram armazenados em freezer à -4 °C para posteriores análises de caracterização e procedimentos de fermentação para produção de etanol.

**Figura 3.4.** Floculação/decantação (A); Caldo clarificado (B).



Fonte: Autor (2016)

### **3.2.3. Métodos analíticos**

#### **3.2.3.1. Caracterização físico-química do caldo**

Foram realizadas análises que consistem na determinação das concentrações de sólidos solúveis (°Brix), determinação da acidez potenciométrica, pH e açúcares redutores totais nos sucos das diferentes variedades de sorgo sacarino *in natura* e pré-tratado termicamente.

#### **3.2.3.2. Determinação de sólidos solúveis (SST)**

A determinação da quantidade de sólidos solúveis (SST) foi determinada através da metodologia segundo IAL (2005), utilizando refratômetro de bancada tipo ABBE 0-95% (marca Biobrix).

#### **3.2.3.3. Determinação de pH**

O pH foi determinado de acordo com a metodologia do IAL (2005), utilizando pHmetro digital (modelo PHS-3B).

#### **3.2.3.4. Determinação de açúcares redutores (ART)**

Os teores de açúcares redutores foram determinados de acordo com a metodologia do NREL (2008). As análises foram realizadas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com os dados e as condições das operações: cromatógrafo líquido equipado com uma bomba modelo ProStar 210 (Varian); Injetor manual com loop de 20 µL; Detector de índice de refração modelo ProStar 356 (Varian); Coluna analítica de aço inox Hi-Plex H (300 x 7,7 mm; Varian); Temperatura da coluna de 60 °C; Fase móvel: água miliQ com vazão de 0,6 mL/min; Tempo de análise: 15 min. As soluções padrões internas, utilizadas na quantificação dos teores dos caldos foram glicose, frutose, xilose, arabinose e sacarose (Sigma 99,99%).

### **3.2.4. Fermentação dos caldos das cultivares do sorgo sacarino**

As fermentações seguiram metodologia descrita por Pataro et al. (2002), que emprega o sistema em batelada simples que consiste em colocar o inóculo e todo o meio a ser fermentado na dorna de fermentação. As amostras foram conduzidas em triplicata, no sistema batelada simples em Erlenmeyers de 250 mL de volume total em

equipamento Shaker Marconi modelo MA-420, como pode ser observado na Figura 3.5. As condições de fermentação: temperatura controlada a 30 °C, agitação de 150 RPM e período de fermentação de 48 horas, sendo retirada alicotas para análise da cinética de fermentação, nos períodos entre 3, 6, 12, 24 e 48 horas.

**Figura 3.5.** Sistema de batelada simples



Fonte: Autor (2016)

Nos erlenmeyers foram adicionados 150 mL de caldo de sorgo e inoculados 3 g L<sup>-1</sup> de fermento industrial seco Y-904 (*Saccharomyces cerevisiae*) e 3% de nutrientes (N,P,K). Após as fermentações dos caldos (mosto), alicotas de 2 ml foram coletadas, filtradas e diluídos na concentração de 1:25 e adicionados em Ependof de 2 mL e conservados a -4 °C para posteriores determinações de açúcares redutores, ácidos orgânicos e etanol, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do mosto. Os parâmetros cinéticos calculados nas fermentações foram: rendimento de etanol ( $y_{P/AT}$ ) produtividade total em etanol (QP), eficiência do processo fermentativo ( $\epsilon$ ) e eficiência de conversão de açúcares em etanol (ECA). Conforme será apresentado nos itens: 3.2.4.1; 3.2.4.2; 3.2.4.3; 3.2.4.4 e 3.2.4.5.

### 3.2.4.1. Rendimento em etanol

Os valores de rendimento das fermentações, representados pelo fator de conversão de açúcares totais em etanol ( $Y_{P/AT}$ ) foram calculados de acordo com a Equação 1.

$$Y_{P/AT} = \frac{(P_f - P_0)}{(AT - AT_f)} \quad (1)$$

Em que:

$Y_{P/AT}$  - Fator de conversão de glicose em etanol, g etanol formado por grama de glicose consumida, g g<sup>-1</sup>

$P_f$  e  $P_0$  - Concentração final e inicial de produto etanol, g L<sup>-1</sup>

$AT - AT_f$  - Concentração final e inicial de produto glicose, g L<sup>-1</sup>



### 3.2.4.2. Produtividade e eficiência total em etanol

Os valores de produtividade total em etanol de cada processo ( $Q_P$ ), expresso em massa do produto formado por unidade de tempo e por unidade de volume (g/h.L) foram obtidos por meio da Equação 4, conforme definição de Gaden Júnior (1959). Equação 2.

$$Q_P = \frac{\Delta P}{\Delta t} = \frac{Pf - P_0}{tf - t_0} \quad (2)$$

Em que:

$Q_P$  - Produtividade volumétrica em produto etanol, (g etanol formado  $L^{-1} h^{-1}$ );

$\Delta t$  - Intervalo de tempo do processo fermentativo,  $h^{-1}$ ;

$Pf$  e  $P_0$  - Concentrações final e inicial de etanol, g  $L^{-1}$ ;

$t_0$  e  $tf$  - Tempos inicial e final de fermentação,  $h^{-1}$ .

Para se obter a eficiência do processo foi utilizada a seguinte Equação 3.

$$E_f(\%) = \frac{yp/At}{0,511} \times 100 \quad (3)$$

### 3.2.4.3. Contagem de células

Os materiais coletados foram descongelados e colocados em uma centrífuga de bancada por um período de 15 min, após esse tempo foi descartado o líquido suspenso e lavado o material centrifugado, em sequência adicionado o material lavado na centrífuga por mais 15 min, novamente o líquido suspenso foi descartado e o material centrifugado foi lavado por três vezes. Por fim, o material obtido na última lavagem passou por uma diluição na concentração de 1:25 e então foi feita a leitura da concentração de células utilizando o espectrofotômetro BEL - Modelo SF200DM - UV Vis, em comprimento de onda de 610 nm.

#### 3.2.4.4. Fator de conversão de substrato em célula

O fator de conversão conversão  $Y_{x/s}$ , foi definido por Monod, e tem sido útil na análise em processos de fermentação alcoólica. O fator de conversão de substrato em célula pode ser descrito a partir da Equação 4.

$$Y_{x/s} = \frac{x_f - x_0}{p_f - p_0} \quad (4)$$

Em que:

$x_f$  - quantidade de células final;

$x_0$  - quantidade de células inicial;

$p_f$  - teor final dos açúcares;

$p_0$  - teor inicial dos açúcares.

#### 3.2.4.5. Velocidade específica de crescimento microbiano ( $\mu_x$ )

A fração pela qual a população de microrganismo cresce na unidade de tempo é representada por  $\mu$ , a qual Borzani et al. (2008) define como velocidade específica de crescimento. Equação 5.

$$\mu_x = \frac{1}{x} \frac{dX}{dt} \quad (5)$$

Em que:

$\mu_x$  - velocidade específica de crescimento;

$dX$  - velocidade;

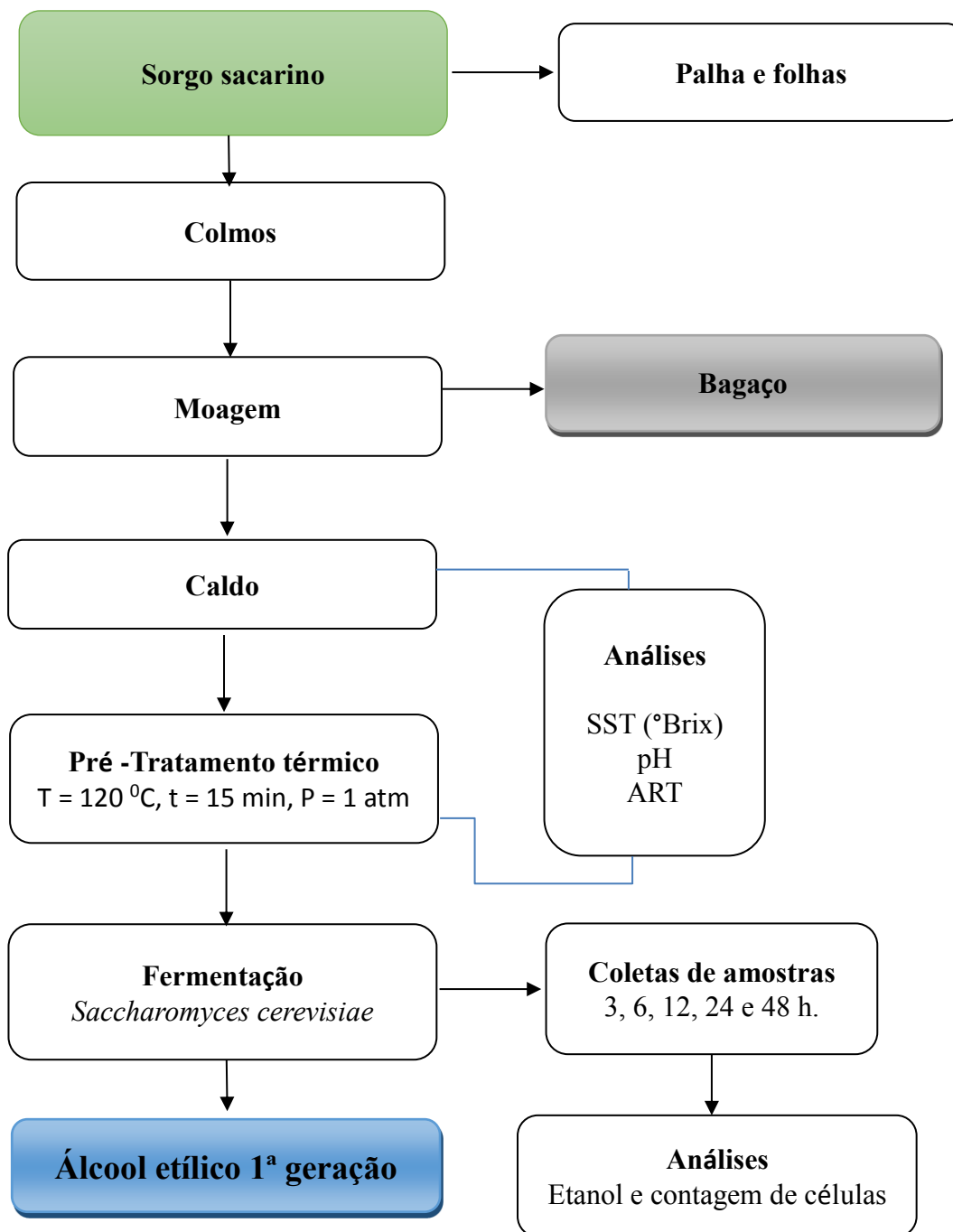
$dt$  - tempo.

O valor de  $\mu_{m\acute{a}x}$  será obtido plotando-se a curva de crescimento microbiano ( $\ln_x$  em função do tempo). Deste modo, será observada a fase logarítmica na curva e com os pontos que compõem esta fase obteve-se o valor de  $\mu_{m\acute{a}x}$  por meio da regressão linear (Equação. 6); a tangente da reta do gráfico ( $\ln_x$  x tempo) é o valor de  $\mu_{m\acute{a}x}$ , que indica a velocidade máxima de crescimento celular.

$$\mu_{m\acute{a}x} = \frac{\ln(x/x_i)}{(t-t_i)} \quad (6)$$

A Figura 3.6 apresenta o fluxograma das etapas do processo para obtenção biotecnológica do etanol de 1ª proveniente do caldo do colmo das diferentes variedades de sorgo sacarino.

**Figura 3.6.** Fluxograma de produção para etanol de 1ª geração



Fonte: Autor (2016)

### 3.3. Matéria-prima (bagaço do sorgo)

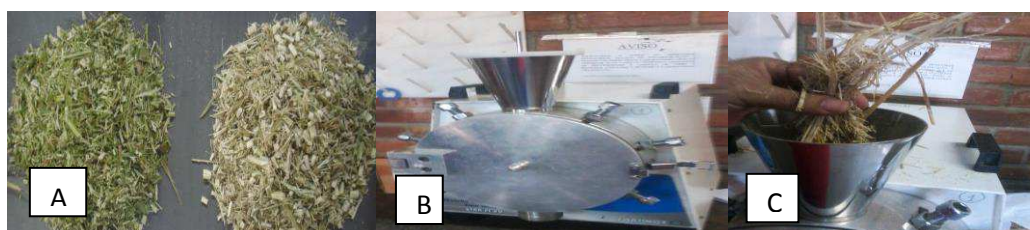
Para obtenção do etanol de 2ª geração, o bagaço recolhido e identificado de acordo com a variedade do sorgo, cortado em tamanhos entre 5 e 8 cm facilitando a etapa seguinte de lavagem, secagem e moagem.

Os bagaços foram lavados três vezes, na proporção de 1kg de bagaço para 10 L de água, sendo a última lavagem em água destilada com tempo determinado de 20 min entre cada lavagem, em temperatura ambiente para lixiviação dos açúcares remanescentes da extração do caldo, sendo realizado esta etapa até atingir °Brix zero, sendo utilizado para aferição um refratômetro de bancada tipo ABBE 0-95% (marca Biobrix).

Após a lavagem o material foi filtrado e submetido a uma secagem em estufa com circulação de ar, a temperatura constante de 55 °C, no tempo de 24 h.

Os bagaços lavados e secos, foram separados e identificados quanto a variedade e submetidos a redução das partículas através de moinho de faca (moagem), apresentado na Figura 3.7, bagaço (A), moinho de facas (B) e moagem do bagaço (C), acondicionado em sacos plásticos com capacidade para 1 kg de bagaço, armazenados em caixas de isopor hermeticamente fechadas com sachê de sílica gel para uso posterior.

**Figura 3.7.** Bagaço (A); Moinho de faca (B) e Moagem do bagaço (C)



Fonte: Autor (2016)

### 3.4. Caracterização físico-química

As metodologias utilizadas para caracterizar as variedades de sorgo sacarino no presente trabalho foram baseadas nos procedimentos para análise de material lignocelulósico, documento 236 EMBRAPA (Morais et al., 2010). Serão determinados os teores de umidade, cinzas, extrativos, lignina, holocelulose, celulose, hemicelulose.

### 3.5. Análise granulométrica

A granulometria do material *in natura* e pré-tratado, segue metodologia descrita pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1984). Foram determinadas as granulometrias, pesando uma massa aproximadamente de 100,00 g de bagaço seco em

peneiras previamente pesadas em balança analítica e transferindo para o agitador de peneiras Produtest como apresenta Figura 3.8, sob frequência de 50 RPM durante 30 min, utilizando jogo de oito peneiras entre: 32; 35; 42; 48; 60; 65; 80 e 100 mesh. O material retido em cada peneira foi pesado e os resultados expressos percentualmente em relação a massa do material original.

**Figura 3.8.** Agitador de peneiras



Fonte: Autor (2016)

Os cálculos do diâmetro médio da partícula  $D$  foi obtido utilizando a equação de Sauter, apresentada por Cremasco (2012), de acordo com a Equação 7.

$$D = \frac{1}{\sum_i \frac{\Delta x_i}{D_i}} \quad (7)$$

Em que:

$\Delta x_i$  – Fração mássica retida sobre cada peneira;

$D_i$  - Diâmetro médio de abertura das peneiras superior e inferior.

### 3.6. Caracterização microestrutural e térmica

#### 3.6.1. Difração de raios-X (DRX)

Foi realizada uma difração de Raio-X do bagaço do sorgo sacarino *in natura* e após o emprego dos pré-tratamentos ácido e básico. As análises foram realizadas em um aparelho marca Shimadzu modelo XRD – 600, no Laboratório de Processamento e Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais UAEMA/CCT – UFCG, utilizando como fonte de radiação CuK $\alpha$ , tensão de 40 kV e corrente de 30 mA. A velocidade a ser empregada de 2° min<sup>-1</sup> e uma faixa de varredura de 2 $\Theta$  = 10 a 50°, a amostra foi colocada em um pequeno cadinho de alumina suspenso ao braço da balança por um fio de platina permanecendo até que toda massa sofra oxidação, para determinação da cristalinidade, foi utilizada a Equação 10, segundo Thygesen et al. (2005). Equação 8.

$$I_c = \frac{(I_{002} - I_{am})}{I_{002}} \times 100 \quad (8)$$

Em que;

$I_c$  - Índice de cristalinidade;

$I_{002}$  - Intensidade do pico no plano cristalino 002 ( $2\Theta = 22,6^\circ$ );

$I_{am}$  - Intensidade do pico na fase amorfa ( $2\Theta = 19,0^\circ$ ).

### 3.6.2. Comportamento térmico - Termo gravimétrico

As análises termogravimétricas fornecem informações características sobre o comportamento térmico de materiais diante de um aumento progressivo de temperatura quando comparado com uma amostra padrão inerente a altas temperaturas.

As análises foram realizadas nos laboratórios da central analítica do departamento de química da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, utilizando os bagaços de sorgo na forma *in natura* e após os pré-tratamentos ácido e básico, utilizando um sistema de análises térmicas simultâneo, as curvas termogravimétricas obtidas em analisador térmico Shimadzu em atmosfera de ar sintético, massa de 10 mg, razão de aquecimento  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  sob atmosfera de nitrogênio, até temperatura máxima de  $1000^\circ\text{C}$  em cadinho de alumina.

### 3.7. Pré-tratamentos do bagaço do sorgo sacarino

O processo de produção de bioetanol a partir dos resíduos lignocelulósicos demanda a transformação da celulose em monômeros de glicose e sua posterior conversão, por microrganismos (leveduras), em etanol. Entretanto, a celulose nativa encontra-se protegida pela matriz estrutural lignina-carboidrato, de modo que a celulose torna-se muito recalcitrante à ação hidrolítica, resultando em uma conversão lenta do processo.

Para tanto será necessário realizar um pré-tratamento do bagaço, de modo a aumentar a exposição das fibras de celulose, tornando-as mais acessíveis aos agentes hidrolíticos enzimáticos.

#### 3.7.1. Pré-tratamento ácido

O pré-tratamento ácido foi realizado com o objetivo de separar e solubilizar a fração hemicelulósica do bagaço de sorgo sacarino, conseqüentemente, aumentar a susceptibilidade da celulose para os processos de hidrólise sem afetar sua estrutura.

O planejamento experimental utilizado para o pré-tratamento utilizado, foi o fatorial, minimizando o número de experimentos, sendo  $2^3 + 3$  repetições no ponto central, cuja as variáveis independentes foram, tempo de pré-tratamento, concentração de ácido e temperatura. Para cada ensaio foi utilizado 5,00 g do bagaço de sorgo sacarino *in natura* e 50 mL de solução de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) nas concentrações que variam entre 1,0 a 3,0%, ou seja, relação de 1:10 (m/v), as temperaturas utilizadas variaram entre de 80 a 120 °C e o tempo entre 60 a 120 min. Pode ser observado na Tabela 3.1, os níveis reais e codificados para o planejamento do pré-tratamento ácido.

**Tabela 3.1.** Níveis reais e codificados das variáveis de entrada no processo de pré-tratamento ácida.

<b>Variáveis codificadas</b>	<b>- 1</b>	<b>0</b>	<b>+ 1</b>
Tempo de pré-tratamento (min.)	60	90	120
Concentração do ácido $H_2SO_4$ (%)	1,0	2,0	3,0
Temperatura ( $^{\circ}C$ )	80	100	120

A Tabela 3.2, apresenta a matriz de planejamento experimental utilizado para o pré tratamento ácido ( $H_2SO_4$ ).

**Tabela 3.2.** Matriz de planejamento fatorial completo  $2^3+3$  para pré-tratamento do bagaço com ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ).

<b>Ensaio</b>	<b>Concentração de ácido (%)</b>	<b>Temperatura (<math>^{\circ}C</math>)</b>	<b>Tempo de exposição (min)</b>
01	1,0	80	60
02	3,0	80	60
03	1,0	120	60
04	3,0	120	60
05	1,0	80	120
06	3,0	80	120
07	1,0	120	120
08	3,0	120	120
09	2,0	100	90
10	2,0	100	90
11	2,0	100	90

Após o tratamento, foi realizada a filtração do material sólido pré-tratado com diferentes concentrações de  $H_2SO_4$  e o licor coletado foi acondicionado em tubo ependof contendo 2 mL e congelado a  $-4\text{ }^\circ\text{C}$  para posteriores análises. A fração sólida foi lavada com água destilada até atingir  $\text{pH} = 7$  em seguida o mesmo foi colocado em estufa a  $105\text{ }^\circ\text{C}$  por 24 horas para retirada da umidade e acondicionados em sacos plástico lacrados e armazenados em caixa de isopor com sílica gel para posterior caracterização.

As respostas para o melhor tratamento no planejamento quanto as variáveis tempo, concentração e temperatura serão encontradas após análises feitas no licor dos onze ensaios para cada variedade, em cromatografia líquida de alta eficiência CLEA para identificar e quantificar os açúcares (glicose, xilose e arabinose).

### **3.7.2. Pré-tratamento básico**

O pré-tratamento ácido resultará na remoção da fração hemicelulósica, no entanto, a lignina ainda presente no material pré-tratado ácido impõe restrições estruturais sobre a celulase, já que possibilita ligações improdutivas retardando o ataque enzimático. Desta forma a estrutura da lignina é modificada pela presença de substâncias alcalinas, um pré-tratamento com hidróxido de sódio será realizado nos bagaços de sorgo sacarino previamente tratados com ácido, com o objetivo de solubilizar a lignina presente no material, sem causar danos a cadeia celulósica para posterior processo enzimático.

Para o processo de deslignificação do material lignocelulósico será empregada a técnica de extração alcalina. O produto do pré-tratamento ácido, receberá um pré-tratamento alcalino com diferentes concentrações de hidróxido de sódio para a solubilização da lignina.

Para o estudo de deslignificação será utilizado um planejamento fatorial  $2^3+3$  repetições no ponto central, estudando as variáveis independentes como o tempo de pré-tratamento, concentração de hidróxido de sódio e temperatura, totalizando onze ensaios. Para cada ensaio será utilizado 5,00 g da amostra de bagaço pré-tratado com ácido e 50 mL de solução de NaOH, ou seja, uma relação de 1:10 (m/V). Durante o processo as concentrações variaram de 1,0 a 4,0%, as temperaturas de 100 a  $140\text{ }^\circ\text{C}$  e o tempo entre 60 e 120 min. Os referidos valores escolhidos seguem metodologia aplicada por Rueda (2010) estudou aplicação de pré-tratamentos e hidólises em bagaço de cana-de-açúcar.



Na Tabela 3.3 apresentam os níveis reais e codificados das variáveis de entrada no processo de pré-tratamento básico do material lignocelulósico.

**Tabela 3.3.** Níveis reais e codificados das variáveis de entrada no processo de pré-tratamento básico (NaOH).

<b>Variáveis codificadas</b>	<b>- 1</b>	<b>0</b>	<b>+ 1</b>
Tempo de pré-tratamento (min)	60	90	120
Concentração do NaOH (%)	1,0	2,5	4,0
Temperatura (°C)	100	120	140

Pode ser observada na Tabela 3.4, a matriz do planejamento fatorial completo  $2^3 + 3$  pontos centrais para o pré-tratamento com hidróxido de sódio e as variáveis de entrada, concentração, temperatura e tempo.

**Tabela 3.4.** Matriz de planejamento fatorial completo  $2^3$  para o pré-tratamento com hidróxido de sódio (NaOH).

<b>Ensaio</b>	<b>Concentração de base (%)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo (min)</b>
01	1,0	100	60
02	4,0	100	60
03	1,0	140	60
04	4,0	140	60
05	1,0	100	120
06	4,0	100	120
07	1,0	140	120
08	4,0	140	120
09	2,5	120	90
10	2,5	120	90
11	2,5	120	90

Após o pré-tratamento ácido seguido de base, foram determinadas nos licores as concentrações dos açúcares por cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE, para identificação do ensaio com melhor resultado do pré-tratamento.

Para otimização das condições utilizadas nos resultados dos pré-tratamentos ácido e básico, será utilizado programa STATSOFT, Inc. Statistica (data analysis

software system), version 8.0, de forma a seguir metodologia descrita por RODRIGUES e IEMMA (2005).

Os processos de pré-tratamentos ácido e ácido seguido de base foram realizados em reator pressurizado da marca Parr (Figura 3.9) com controle de temperatura MAITEC modelo FE50RO, com capacidade de 750 mL.

**Figura 3.9.** Reator pressurizado



Fonte: Autor (2017)

### **3.7.3. Caracterização dos licores pré-hidrolisados**

#### **3.7.3.1. Determinação da concentração de açúcares**

A determinação dos teores de açúcares nos licores dos bagaços pré-tratados foram realizadas no Laboratório de Engenharia de Alimentos - PPGCTA/UFPB, por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) equipado com uma bomba modelo ProStar 210 (Varian); injetor manual com loop de 20 $\mu$ L; detector de índice de refração modelo ProStar 356 (Varian); coluna analítica de aço inox Hi-Plex H (300 mm x 7,7 mm; Varian); temperatura da coluna de 60 °C; utilizando como solvente uma solução 0,005 mol.L<sup>-1</sup> de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) à uma vazão de 0,6 mL.min<sup>-1</sup>, pressão máxima de 1.000 psi e tempo de análise: 15 min. As amostras foram previamente diluídas e filtradas em filtro “Sep-Pack” C18 (Millipore) e em membrana de acetato de celulose ME25 com 0,45 e 0,25  $\mu$ L D13 mm segundo metodologia descrita por NREL (2008b).

### **3.8. Hidrólise enzimática**

#### **3.8.1. Determinação da atividade enzimática**

A atividade enzimática foi desenvolvida seguindo a metodologia proposta por Ghose (1987), medindo a atividade celulolítica em torno das unidades de papel filtro por mililitro da solução enzimática original.

Serão adicionados aos tubos de ensaios, 50 mg de substrato (papel filtro qualitativo de 80 g m<sup>2</sup>; cinza 0,0005 g; permeabilidade ao ar: 3 L s<sup>-1</sup> m<sup>2</sup> e porosidade da maioria dos poros em 8 µm), 1 mL do tampão citrato de sódio (50 mM, pH = 4,8) e 0,5 mL da enzima diluída. Os tubos controles de enzima não terão substrato e o tubo controle do substrato não terão a enzima. Os tubos padrões de glicose terão 0,5 mL de diluição de glicose e 1 mL do tampão. Os tubos serão incubados em banho termostático a 50 °C por 60 min. Após o período de incubação, serão adicionados 3 ml do ácido dinitrossalicílico (DNSA) para interromper a reação enzimática. Para dosagem dos açúcares redutores totais, os tubos serão colocados exatamente por 5 min em banho-maria. A leitura da absorbância da amostra será realizada em um espectrofotômetro UV-Vis em comprimento de onda de 540 nm.

Ao usar a curva de calibração da glicose será possível determinar a concentração de glicose liberada em cada reação enzimática. A concentração da enzima foi estimada para 2 mg de glicose liberada durante a reação enzimática (definição de Filter Paper Unity - FPU), através da equação da reta entre as concentrações de glicose após cada reação e os logaritmos das respectivas diluições da enzima (GHOSE,1987).

#### **3.8.2. Procedimento de hidrólise enzimática**

Na hidrólise enzimática dos bagaços de sorgo sacarino das cultivares BRS506 e IPA EP17 serão realizados ensaios com o auxílio de um planejamento fatorial 2<sup>2</sup> + 3 pontos centrais, verificando as influências das variáveis de entrada; carga enzimática e porcentagem de massa seca do sorgo por volume reacional no aumento da concentração de glicose na solução.

A hidrólise será realizada em Erlenmeyers de 250 mL contendo separadamente os bagaços de sorgo sacarino das cultivares BRS506 e IPA EP17 após pré-tratamento ácido seguido de básico, o extrato enzimático e a solução tampão citrato de sódio (pH

4,8),  $\beta$ -glicosidase (novozym) e antibiótico (tetraciclina) nas condições do planejamento experimental para hidrólise dos bagaços pré-tratados ácidos seguidos de básico, mantidas em uma incubadora shaker (modelo SP - 223) sob agitação de 150 rpm e temperatura de 50 °C durante 72 horas.

Foi realizado um planejamento  $2^2 + 3$  pontos centrais, conforme a Tabela 3.5, que apresenta os níveis das variáveis de entrada reais e codificados.

**Tabela 3.5.** Valores reais e codificados das variáveis avaliadas no processo da hidrólise enzimática.

Variáveis codificadas	- 1	0	+ 1
Carga enzimática (FPU g <sup>-1</sup> )	10	17,5	25
Massa sorgo/extrato enzimático (g mL <sup>-1</sup> )	2	3	4

A Tabela 3.6, apresenta a matriz do planejamento experimental fatorial completo  $2^2$  para hidrólise enzimática com seus respectivos ensaios e variáveis independentes.

**Tabela 3.6.** Matriz do planejamento experimental para hidrólise enzimática.

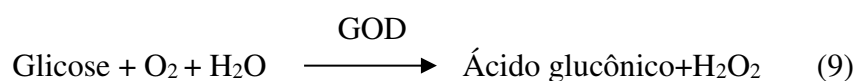
Ensaio	Variáveis independentes	
	Relação sólido/líquido	Carga enzimática
1	2 (-1)	10 (-1)
2	4 (+1)	10 (-1)
3	2 (-1)	25 (+1)
4	4 (+1)	25 (+1)
5	3 (0)	17,5 (0)
6	3 (0)	17,5 (0)
7	3 (0)	17,5 (0)

Os valores escolhidos para os níveis reais das variáveis carga enzimática e relação massa seca dos bagaços por volume reacional foram definidos conforme metodologia utilizada por Silva et al. (2010) estudando hidrólise enzimática em palha de cana-de-açúcar.

Para o acompanhamento da cinética da hidrólise enzimática e assim obter as melhores condições para a obtenção da máxima concentração de glicose, foram coletadas amostras em tempos entre 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas.

### 3.8.3. Quantificação dos açúcares no licor hidrolisado

Para a determinação da concentração de glicose liberada pela  $\beta$ -glicosidase, foi utilizada metodologia descrita por (Trinder, 1969), e utilizada por Vasconcelos (2012) em trabalho de pré-tratamentos hidrotérmico e com ácido fosfórico diluído em bagaço de cana-de-açúcar para aplicação em biorrefinarias. Utilizou-se um kit de análise de glicose (Reagente GOD-POD, Biosystems), o qual se baseia na reação das enzimas glicose oxidase e peroxidase. A glicose oxidase catalisa a oxidação da glicose de acordo com a seguinte reação. Equação 9.



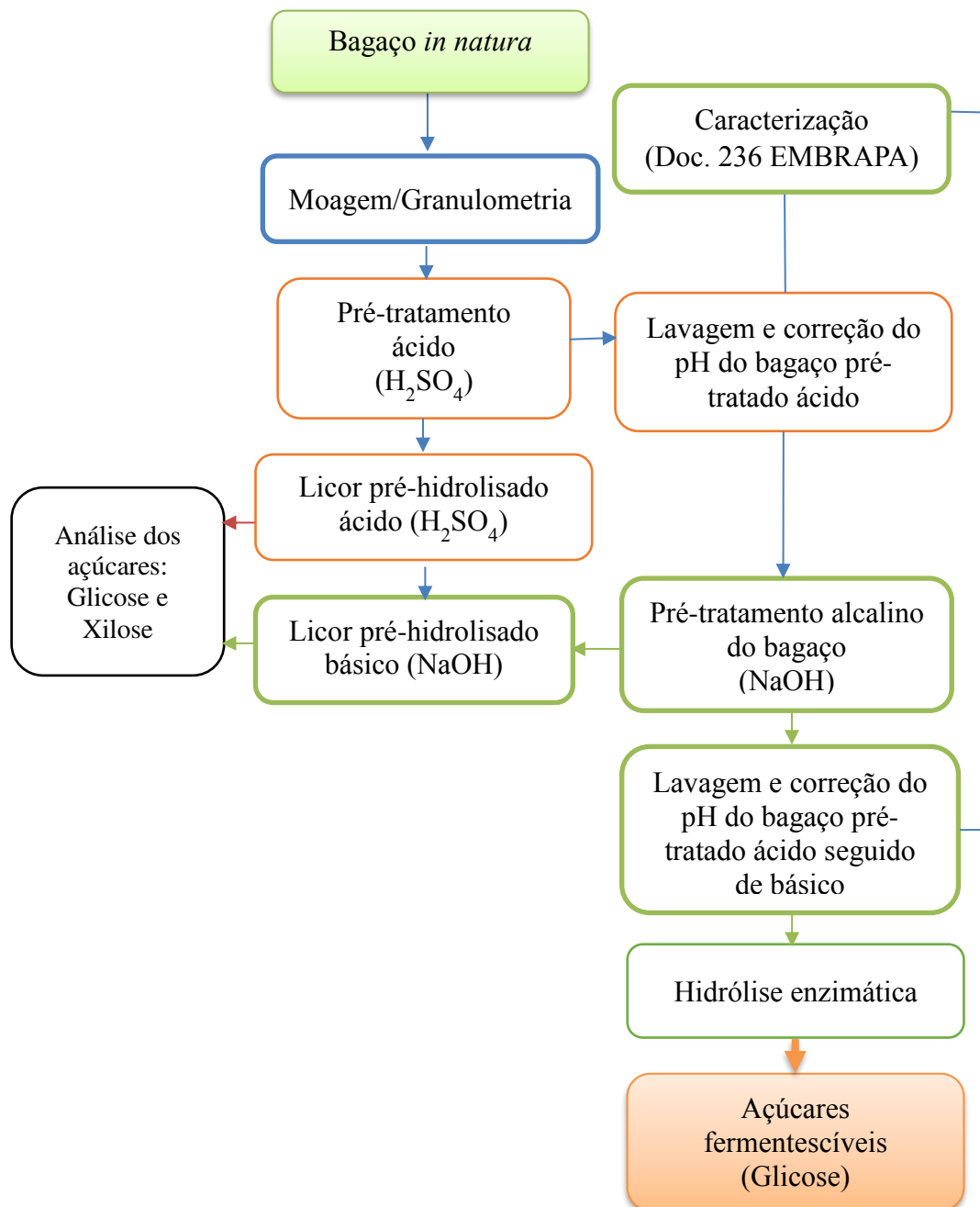
Por sua vez, o peróxido de hidrogênio formado reage com 4-aminoantipirina e fenol, sob a ação da enzima peroxidase. O produto final dessa reação é a antipirilquinonimina de coloração vermelha, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de glicose na amostra. Tal reação está representada a seguir. Equação 10.



A glicose produzida foi determinada pela adição da solução diluída em 1:1 nos volumes de 0,01 mL contendo a amostra hidrolisada para 0,01 mL de água deionizada em tubos contendo 1,0 mL do reagente GOD-POD. Os tubos foram incubados em banho termostático a 37 °C, durante 10 min. As leituras das absorbâncias foram feitas em espectrofotômetro a 505 nm. A determinação da concentração de glicose liberada em cada reação enzimática foi realizada através da utilização de uma curva padrão de glicose.

A Figura 3.10 apresenta o fluxograma das etapas do processo para obtenção biotecnológica do etanol de 2ª geração proveniente do bagaço do colmo das diferentes variedades de sorgo sacarino.

**Figura 3.10.** Fluxograma de produção biotecnológica para etanol de 2ª geração.



Fonte: Autor (2017)

---

# Capítulo IV

---

Resultados e  
discussão

---

#### 4. Resultados - Biomassa sorgo sacarino

No presente capítulo caracterização da biomassa, será descrito os resultados dos dados agronômicos do sorgo sacarino, das caracterizações da biomassa caldo do sorgo sacarino e da biomassa lignocelulósica do colmo do sorgo sacarino para todas as variedades estudadas no presente trabalho.

##### 4.1. Caracterização agronômicas do sorgo sacarino

A Tabela 4.1 apresenta os resultados dos dados agronômicos encontrados nas diferentes cultivares de sorgo sacarino.

**Tabela 4.1.** Resultados para produção de matéria verde (PMV), produção de matéria seca (PMS) e eficiência de extração de caldo (EEC) nas diferentes cultivares de sorgo sacarino.

Variedade	PMV (t ha <sup>-1</sup> )	PMS (t ha <sup>-1</sup> )	EEC (%)
<b>BRS506</b>	63,9 ± 0,17 ab	17,76 ± 0,24 bc	46 ± 0,07 a
<b>IPA 2502</b>	39,5 ± 0,68 c	11,58 ± 0,02 c	32 ± 0,12 ab
<b>IPA EP17</b>	79,7 ± 0,29 a	30,1 ± 0,12 a	30 ± 0,75 ab
<b>IPA P222</b>	58,6 ± 0,46 bc	21,5 ± 0,11 ab	38 ± 0,35 ab
<b>IPA P134</b>	52,8 ± 0,24 bc	15,7 ± 0,01 bc	36 ± 0,10 ab
<b>IPA P228</b>	53,3 ± 0,25 bc	16,7 ± 0,08 bc	39,1 ± 0,10 ab
<b>IPA SF15</b>	67,8 ± 0,25 ab	24,1 ± 0,10 ab	14,8 ± 0,25 c

\*As médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Para os valores obtidos, realizou-se o teste estatístico de Tukey, com ele foi possível analisar as médias com diferenças significativas para um intervalo de confiança de 95%.

Os resultados encontrados para produção de matéria verde (biomassa total) nas variedades pesquisadas que obtiveram os maiores valores foram; BRS506, IPA EP17 e IPA SF15, com produção em (t.ha<sup>-1</sup>) 63,9; 79,7 e 67,8 respectivamente, resultados estes próximos aos encontrados por Gomes et al. (2008) que ao avaliarem produção de matéria verde em sorgo sacarino encontraram valores entre 62,2 a 75,7 t ha<sup>-1</sup>.



Entre as variedades trabalhadas que obtiveram os maiores valores para produção de matéria seca em t ha<sup>-1</sup> foram as IPA EP17 e IPA SF15 com valores entre 30,1 ± 0,12 e 24,1 ± 0,10, respectivamente, resultados estes próximos aos encontrados por Oliveira (2014) que estudando 65 progênies de sorgo sacarino, obteve em 10 variedades pesquisadas uma produção média entre 37,6 e 30,1 t ha<sup>-1</sup> de matéria seca. Os dados encontrados por Silva Filho et al. (2006), que ao trabalharem com variedades de sorgo sacarino SF15 e IPA 467-4-2 registraram valores em torno de 35 t ha<sup>-1</sup> sendo estes superiores aos encontrados neste trabalho.

Para os dados relativos a eficiência de extração do caldo (%) os valores que se destacaram no presente trabalho foram nas variedades BRS506, IPA P228, IPA P222 e IPA P134 com os valores entre 46 ± 0,07; 39 ± 0,10; 38 ± 0,35 e 36 ± 0,10 respectivamente, valores estes próximos aos encontrados por Tabosa et al. (2010) ao trabalharem com as variedades de sorgo sacarino SF 15 e Theis no sertão do São Francisco em Canindé-SE, apresentaram eficiência de extração de caldo entre 40 e 53% respectivamente.

Pode ser observado na Tabela 4.2, os resultados agronômicos das variedades de sorgo sacarino quanto a: produção de colmo na colheita (PCL), sólidos solúveis totais (°Brix) açúcares redutores totais (ART) e Etanol teórico (ET) encontrados nas diferentes cultivares de sorgo sacarino.

**Tabela 4.2.** Dados para produção de colmo na colheita (PCL), sólidos solúveis totais (°Brix) açúcares redutores totais (ART) e etanol teórico (ET) nas diferentes cultivares de sorgo sacarino.

<b>VARIEDADE</b>	<b>PCL (t.ha<sup>-1</sup>)</b>	<b>SST (°Brix)</b>	<b>ART (g L<sup>-1</sup>)</b>	<b>ET (g L<sup>-1</sup>)</b>
<b>BRS 506</b>	37,3 ± 0,14 ab	12,3 ± 0,08 ab	54,66 ± 0,88 cd	35,40 ± 0,94d
<b>IPA 2502</b>	14,6 ± 0,46 d	5,1 ± 0,10 c	39,73 ± 0,42 d	25,73 ± 0,94e
<b>IPA EP17</b>	41,9 ± 0,68 a	16,8 ± 0,40 a	55,43 ± 0,92 cd	35,90 ± 1,2d
<b>IPA P222</b>	35,5 ± 0,06 ab	14,8 ± 0,11 ab	67,86 ± 0,81 c	55,71 ± 0,81c
<b>IPA P134</b>	26,5 ± 0,25 bcd	7,1 ± 0,01 c	176 ± 0,98 a	114,01 ± 0,81a
<b>IPA P228</b>	29,6 ± 0,38 bcd	9,2 ± 0,01 abc	117 ± 0,56 a	96,06 ± 0,81b
<b>IPA SF15</b>	40,2 ± 0,13 a	13,6 ± 0,27 ab	62,21 ± 0,7 c	40,29 ± 1,24cd

\*As médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Para os valores obtidos, realizou-se o teste estatístico de Tukey, com ele foi possível analisar as médias com diferenças significativas para um intervalo de confiança de 95%.

Os resultados que se destacaram para produção de colmo na colheita foram observados nas variedades IPA EP17, BRS506, IPA P222 e IPA SF15 com valores entre  $41,9 \pm 0,68$ ;  $37,3 \pm 0,14$ ;  $35,5 \pm 0,06$  e  $40,2 \pm 0,13$  t ha<sup>-1</sup> respectivamente, dados estes próximos aos encontrados por Oliveira (2014) que ao trabalhar com 37 progênies de sorgo sacarino no município de Vitória de Santo Antão, PE, obteve médias 34,8 a 54,2 t ha<sup>-1</sup>. Nagai (2012) estudando cultivares de sorgo sacarino IPA 467-4-2, BRS506 e SF 15 em Itambé-PE avaliando diferentes épocas de plantio, obteve produção de colmos em 11,6; 5,93 e 6,65 t ha<sup>-1</sup> respectivamente, obteve menores valores quando comparados com este trabalho.

Os melhores resultados encontrados para SST (°Brix) na colheita foram observados nas variedades IPA EP17, IPA P222, IPA SF15 e BRS506 com valores entre  $16,8 \pm 0,40$ ;  $14,8 \pm 0,11$ ;  $13,6 \pm 0,27$  e  $12,3 \pm 0,08$ , SST (°Brix), respectivamente, sendo estes valores próximos aos encontrados por Tsuchihashi e Goto (2004) ao trabalharem com a cultivar de sorgo sacarino Wray, obtiveram valor de 15,6 SST (°Brix) na colheita. Pereira Filho et al. (2013), avaliando as cultivares BRS 501 e BRS 505, encontraram valores entre 16,04 e 15,93 °Brix, respectivamente.

Para os valores referentes aos açúcares redutores totais (ART) as variedades IPA P134, IPA P228, IPA P222 e IPA SF15 apresentaram respectivamente 176, 117, 67,86 e 62,21 g L<sup>-1</sup> resultados estes próximos aos encontrados por Dutra et al. (2011) que ao trabalharem com 10 variedades de sorgo sacarino encontraram uma média para açúcares redutores totais entre 64 a 165 g L<sup>-1</sup>.

Os resultados que se destacaram para etanol teórico neste trabalho foram para as variedades IPA EP17, IPA SF15, IPA P222 e BRS506 com os valores variando de  $4.668 \pm 1,2$ ;  $3.822 \pm 1,24$ ;  $3.710 \pm 0,81$  e  $3.467 \pm 0,94$  L ha<sup>-1</sup> respectivamente, valores estes próximos aos encontrados por Pacheco et al. (2014) que ao pesquisarem valores para etanol teórico em variedades de sorgo sacarino BRS511, BRS509, BRS508 e BRS506 obtiveram os seguintes resultados 4.352,51, 3.695,64, 3.506,07 e 2.062,35. Zhao et al. (2009) ao avaliarem três épocas de corte em cinco cultivares de sorgo sacarino, após o florescimento, obtiveram rendimentos de etanol teórico entre 1.281 e 5.414 L ha<sup>-1</sup>.

Em trabalho desenvolvido por Reddy (2005) estudando os comparativos entre cana-de-açúcar e sorgo sacarino, para produtividade de colmo na colheita ( $t\ ha^{-1}$ ) foram encontrados para sorgo sacarino valores entre 35 a  $70\ t\ ha^{-1}$  e para cana de açúcar entre 75 a  $90\ t\ ha^{-1}$ , nos valores para produção de etanol teórico ( $L\ ha^{-1}$ ) para sorgo sacarino foram observadas as variações entre 1.500 a  $5.600\ L\ ha^{-1}$  e para cana de açúcar 5.600 a  $6.500\ L\ ha^{-1}$ .

#### 4.2. Caracterização dos caldos dos colmos do sorgo sacarino

Pode ser observado na Tabela 4.3 a caracterização da matéria prima (caldo) após colheita para produção de etanol de 1ª geração, em SST ( $^{\circ}Brix$ ), pH e açúcares redutores totais (ART) das amostras de caldo *in natura* das cultivares BRS 506, IPA 2502, IPA EP17, IPA P222, IPA P134, IPA P228 e IPA SF15.

**Tabela 4.3.** Composição do caldo do colmo das diferentes cultivares de sorgo sacarino *in natura*.

Cultivares	SST (%)	pH	ART ( $g\ L^{-1}$ )
<b>BRS506</b>	12,20±0,45 ab	5,33±0,004 a	82,06±0,16 abc
<b>IPA P2502</b>	6,25±0,35 c	5,34±0,01 a	49,00±0,13 d
<b>IPA EP17</b>	11,70±0,57 ab	5,37±0,11 a	90,08±0,15 ab
<b>IPA P222</b>	10,26±0,46 b	5,19±0,01 a	72,03±0,7 abcd
<b>IPA P134</b>	10,66±0,0 ab	5,36±0,12 a	58,75±0,15 bcd
<b>IPA P228</b>	8,00±0,01 c	5,25±0,08 a	53,90±0,94 cd
<b>IPA SF15</b>	12,70±0,02 a	5,21±0,02 a	99,64±0,12 a

\*As médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para os valores obtidos, realizou-se o teste de Tukey, sendo possível analisar se as médias que apresentam diferenças significativas para um intervalo de confiança de 95%.

Os resultados que se destacaram para SST ( $^{\circ}Brix$ ) neste trabalho estão presentes nas variedades IPA SF15, BRS506, IPA EP17, IPA P134 e IPA P222 com os valores respectivamente entre  $12,70 \pm 0,02$ ;  $12,20 \pm 0,45$ ;  $11,70 \pm 0,57$  e  $10,66 \pm 0,0$ ;  $10,26 \pm 0,46\%$ , sendo próximos aos encontrados por Dutra et al. (2011) que ao trabalharem com 10 variedades de sorgo sacarino, obtiveram nos caldos *in natura* médias para SST ( $^{\circ}Brix$ ) entre 9,8 e 18,1. Já Pacheco et al. (2014) ao pesquisarem cinco variedades de sorgo sacarino, obtiveram valores respectivamente para SST ( $^{\circ}Brix$ ) entre

12,50 e 17,10%, valores estes acima dos obtidos neste trabalho por causa da colheita ter ocorrido no período de verão.

Os valores obtidos de pH na caracterização dos caldos *in natura* nas variedades de sorgo sacarino variaram entre 5,19 e 5,37, tais valores são próximos aos encontrados por Ferreira (2014) que ao trabalhar com caldo de sorgo sacarino e de cana-de-açúcar, encontrou médias de pH para ambos entre 5,27 e 5,36, já Dutra et al. (2011) em pesquisa desenvolvida com caldo de sorgo sacarino, encontraram médias entre pH 5,3 a 5,44.

Os resultados que se destacaram entre as cultivares na caracterização para açúcares redutores totais (ART) nos caldos *in natura* estão presentes nas variedades IPA SF15, IPA EP17, BRS 506 e IPA P134 com valores variando entre  $99,64 \pm 0,12$ ;  $90,08 \pm 0,15$ ;  $82,06 \pm 0,16$  e  $72,03 \pm 0,7$  g L<sup>-1</sup> respectivamente, estes resultados são próximos aos encontrados por Pacheco (2012) que ao trabalhar com cinco cultivares de sorgo sacarino da EMBRAPA obtiveram valores para ART variando entre 169 a 87,55 g L<sup>-1</sup>. A caracterização do caldo após pré-tratamento térmico apresenta valores diferentes dos dados obtidos nos caldos *in natura*, observados na Tabela 4.4 valores de SST (°Brix), pH e açúcares redutores totais (ART) e os respectivos desvios analisados a partir das amostras dos caldos das cultivares BRS506, IPA SF15, IPA P228, IPA P134, IPA P222, IPA 2502 e IPA EP17.

**Tabela 4.4.** Composição do suco do colmo das diferentes cultivares de sorgo sacarino pré-tratado termicamente.

Cultivares	SST (%)	pH	ART (g L <sup>-1</sup> )
<b>BRS506</b>	11,8 ± 0,92 a	5,35 ± 0,03 a	94,70 ± 0,64 bc
<b>IPA P2502</b>	6,5 ± 0,7 c	5,44 ± 0,01 a	64,6 ± 0,87 d
<b>IPA EP17</b>	11,3 ± 0,2 a	5,39 ± 0,0 a	127,7 ± 0,96 a
<b>IPA P222</b>	10,3 ± 0,57 ab	5,24 ± 0,03 a	113,2 ± 0,48 ab
<b>IPA P134</b>	11,33 ± 0,02 a	5,3 ± 0,0 a	78,86 ± 0,48 cd
<b>IPA P228</b>	8,16 ± 0,28 bc	5,31 ± 0,01 a	83,88 ± 0,57 cd
<b>IPA SF15</b>	12,6 ± 0,04 a	5,23 ± 0,04 a	135,8 ± 0,15 a

\*As médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para os valores obtidos, realizou-se o teste de Tukey, sendo possível analisar as médias que apresentam diferenças significativas para um intervalo de confiança de 95%.

Após o pré-tratamento térmico é observado um acréscimo na concentração de ART e SST (°Brix), por motivo da floculação e decantação dos coloides, não havendo mudança no pH do caldo do colmo do sorgo *in natura* e nem após pré-tratamento. Galdino et al. (2013) em pesquisa com caldo de sorgo sacarino pré-tratado termicamente na variedade IPA 467-4-2 para obtenção de aguardente, encontraram valores de açúcares redutores em 85,7 g.L<sup>-1</sup>, SST (°Brix) no valor de 10,5% e pH variando entre 3,6 e 5, valores estes próximos aos encontrados na Tabela 4.4 deste trabalho.

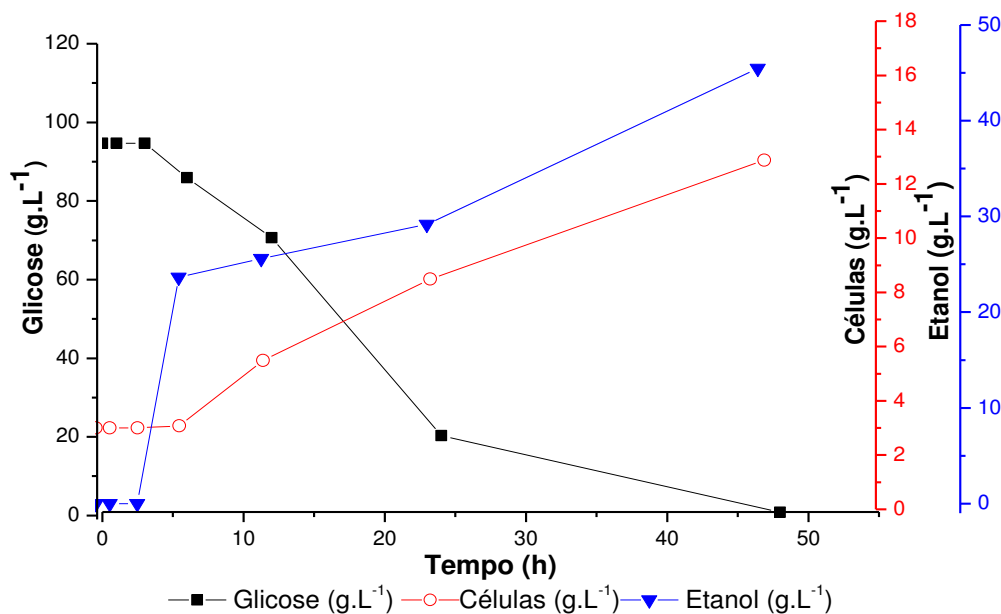
Em pesquisa desenvolvida por Masson et al. (2015) avaliando a produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar foram encontrados valores iniciais para SST (°Brix) 19,23 e ART (%) 15,20 para o sorgo sacarino e para cana-de-açúcar SST (°Brix) 21,23 e ART (%) 17,30 respectivamente.

## 5. Produção de etanol de 1ª geração

### 5.1. Parâmetros cinéticos da fermentação para etanol de 1ª geração

A Figura 5.1 apresenta os perfis da cinética de consumo de substrato limitante, glicose, produção de células e de etanol no processo de fermentação do caldo de sorgo sacarino cultivar BRS506 para obtenção de etanol de 1ª geração.

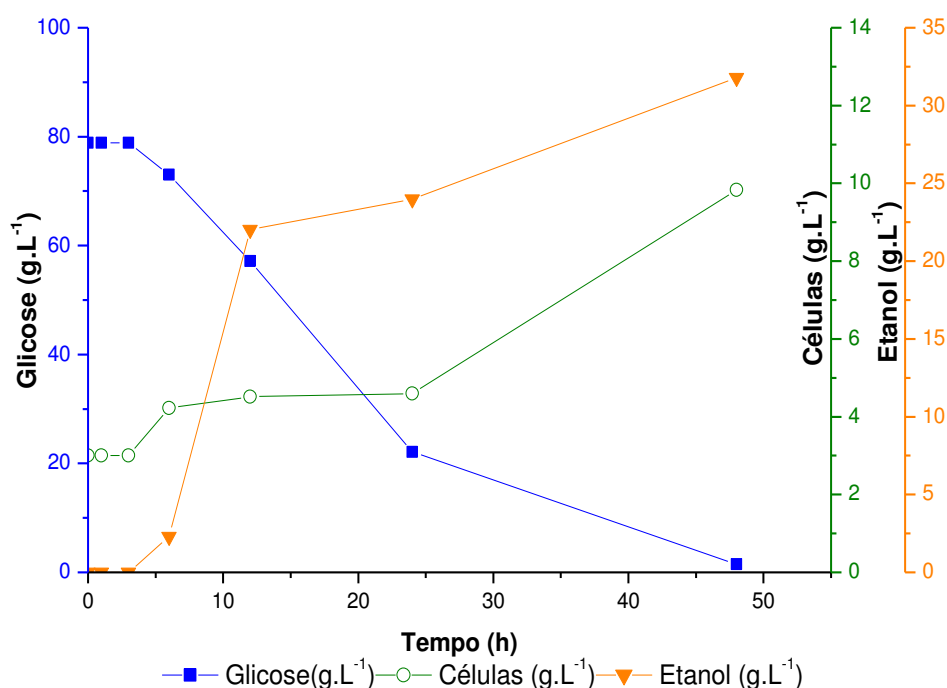
**Figura 5.1.** Perfil do consumo de substrato, produção de células e etanol, empregando caldo de sorgo sacarino da cultivar BR506. Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,35;  $X_0$ : 3 g L<sup>-1</sup>.



A concentração inicial de glicose e celular na fermentação para variedade BRS 506 foram de 94,7 e 3 g L<sup>-1</sup>, respectivamente. Observa-se que a redução percentual de açúcares foi 99,16%, chegando ao final da fermentação em 48 horas com eficiência na conversão de etanol em 92,75% com uma produção de etanol de 45,56 g L<sup>-1</sup> e uma concentração celular de 12,87 g L<sup>-1</sup>.

Encontra-se na Figura 5.2 os perfis da cinética de consumo de substrato limitante, glicose, produção de células e de etanol no processo de fermentação do caldo de sorgo sacarino cultivar IPA P134, para obtenção de etanol de 1ª geração.

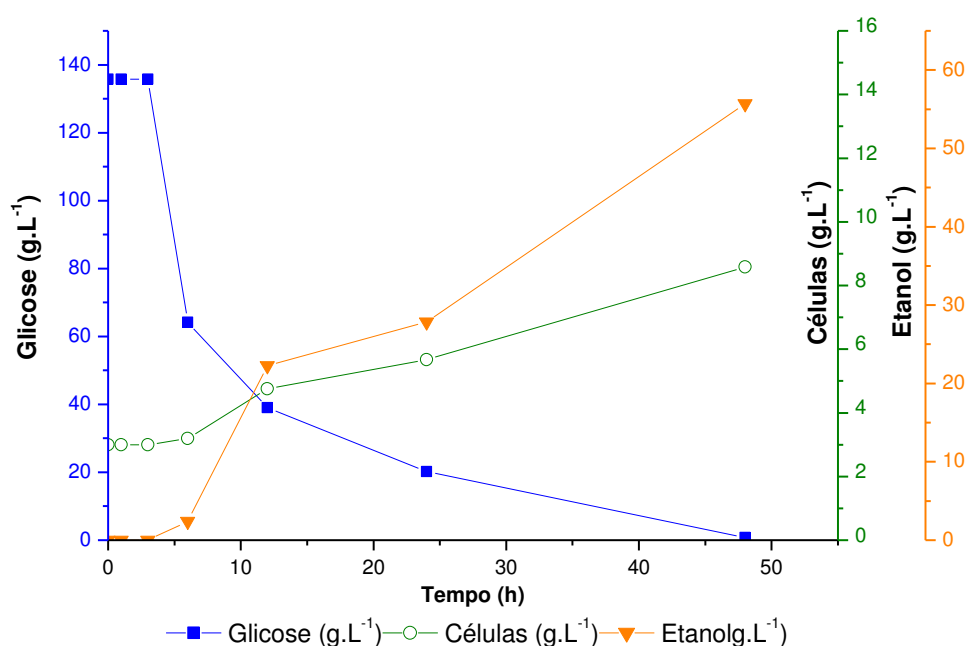
**Figura 5.2.** Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA P134. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3;  $X_0$ : 3 g L<sup>-1</sup>.



A Figura 5.2 apresenta a concentração inicial de glicose e celular no ensaio para IPA P134 foram de 78,86 e 3 g L<sup>-1</sup>. Observou-se que a redução percentual de açúcares foi de 98,11%, chegando ao final da fermentação em 48 h com a eficiência na conversão de etanol de 79,21% com produção de etanol em 31,78 g L<sup>-1</sup> e uma concentração celular de 9,83 g L<sup>-1</sup>.

Encontra-se na Figura 5.3 os perfis da cinética de consumo de substrato limitante, glicose, produção de células e de etanol no processo de fermentação do caldo de sorgo sacarino cultivar IPA SF15, para obtenção de etanol de 1ª geração.

**Figura 5.3.** Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA SF15. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3;  $X_0$ : 3 g L<sup>-1</sup>.

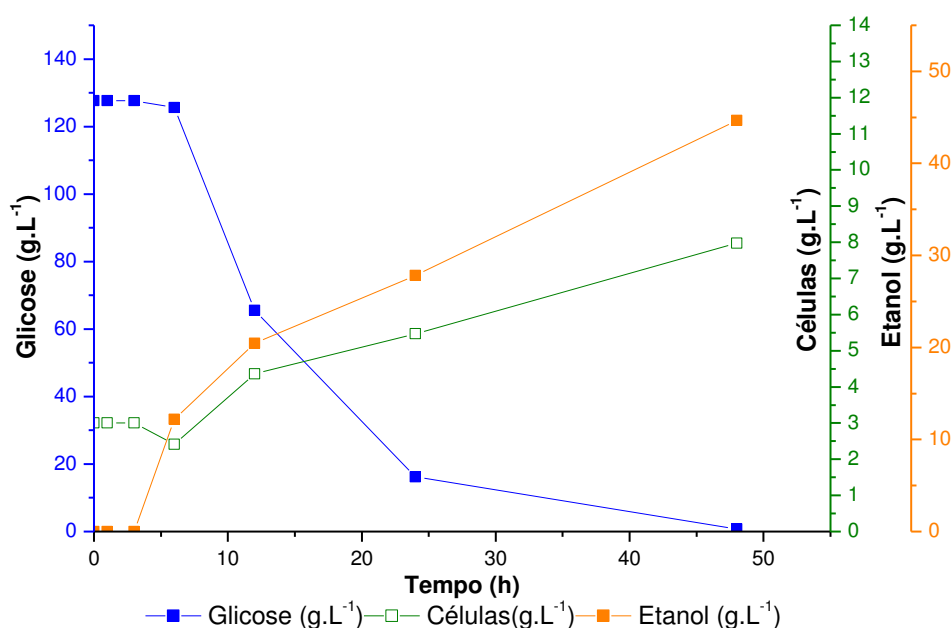


Pode ser observado na Figura 5.3, a concentração inicial da glicose e celular no ensaio para IPA SF15 foram de 135,8 e 3 g L<sup>-1</sup>, observa-se que a redução percentual de açúcares foi 99,41%, chegando ao final da fermentação em 48 h com a eficiência na conversão em etanol de 81,12% com uma produção em etanol de 55,72 g.L<sup>-1</sup> e concentração celular de 9,83 g L<sup>-1</sup>.



Encontra-se na Figura 5.4 os perfis da cinética de consumo de substrato limitante, glicose, produção de células e de etanol no processo de fermentação do caldo de sorgo sacarino cultivar IPA EP17, para obtenção de etanol de 1ª geração.

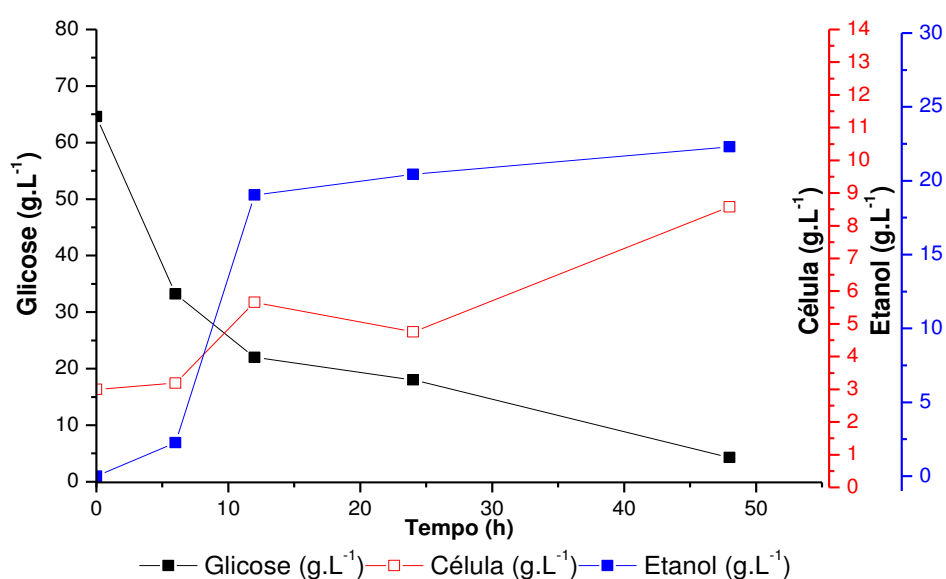
**Figura 5.4.** Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA EP17. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3;  $X_0$ : 3 g L<sup>-1</sup>.



A Figura 5.4, apresenta a concentração inicial da glicose e celular no ensaio para IPA EP17 foram de 127,718 e 3 g L<sup>-1</sup>. Neste caso, observou-se que a redução percentual de açúcares foi 99,37%, chegando ao final da fermentação em 48 h com a eficiência na conversão em etanol de 69,35% com uma produção em etanol de 44,68 g L<sup>-1</sup> e uma concentração celular de 7,97 g L<sup>-1</sup>.

Podem ser observados na Figura 5.5 os perfis da cinética de consumo de substrato limitante, glicose, produção de células e de etanol no processo de fermentação do caldo de sorgo sacarino cultivar IPA P2502, para obtenção de etanol de 1ª geração.

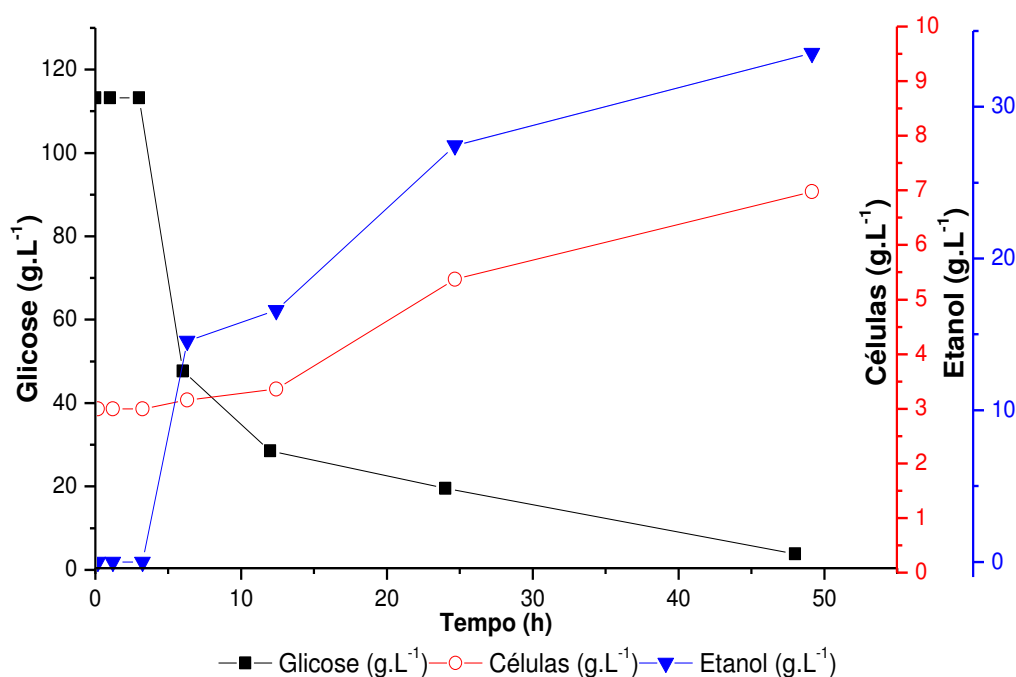
**Figura 5.5.** Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA P2502. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3;  $X_0$ : 3 g L<sup>-1</sup>.



Apresenta-se na Figura 5.5, a concentração inicial da glicose e celular no ensaio para IPA P2502 foram de 64,6 e 3 g L<sup>-1</sup>, pode ser observado que a redução percentual de açúcares foi 93,38%, chegando ao final da fermentação em 48 h com a eficiência na conversão em etanol de 68,34% com uma produção em etanol de 22,3 g L<sup>-1</sup> e uma concentração celular de 7,97 g L<sup>-1</sup>.

Os perfis da cinética de consumo de substrato limitante, glicose, produção de células e de etanol no processo de fermentação do caldo de sorgo sacarino cultivar IPA P2502, para obtenção de etanol de 1ª geração, podem ser observados na Figura 5.6.

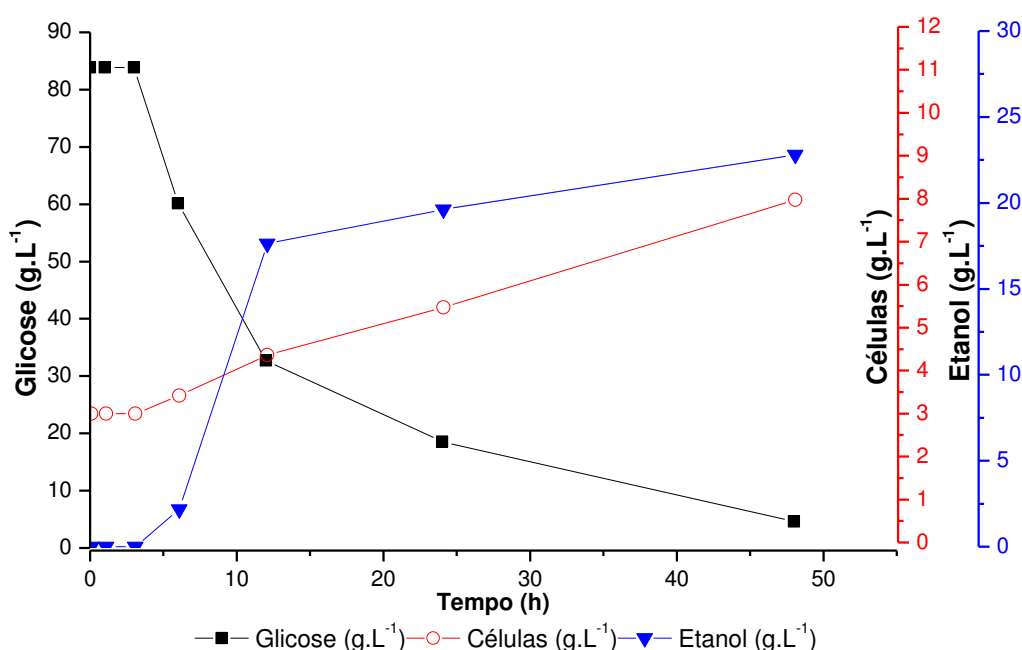
**Figura 5.6.** Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA P222. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3;  $X_0$ : 3 g L<sup>-1</sup>.



Estão presentes na Figura 5.6, a concentração inicial da glicose e celular no ensaio para IPA P222 foram de 113,2 e 3 g L<sup>-1</sup>, nesta Figura observa-se que a redução percentual de açúcares foi 96,62%, chegando ao final da fermentação em 48 h com a eficiência na conversão em etanol de 58,12% com uma produção em etanol de 33,53 g L<sup>-1</sup> e uma concentração celular de 6,98 g L<sup>-1</sup>.

Os perfis da cinética de consumo de substrato limitante, glicose, produção de células e de etanol no processo de fermentação do caldo de sorgo sacarino cultivar IPA P222, para obtenção de etanol de 1ª geração, podem ser observados na Figura 5.7.

**Figura 5.7.** Perfil cinético da produção de etanol e consumo de substrato, empregando caldo de sorgo sacarino IPA P228. X: concentração celular; Temperatura: 30 °C; velocidade de agitação: 150 rpm; pH: 5,3; X<sub>0</sub>: 3 g L<sup>-1</sup>.



De acordo com a Figura 5.7, a concentração inicial da glicose e celular no ensaio para IPA P228 foram de 83,88 e 3 g L<sup>-1</sup>, nesta Figura observa-se que a redução percentual de açúcares foi 94,52%, chegando ao final da fermentação em 48 h com a eficiência na conversão em etanol de 55,14% com uma produção em etanol de 22,81 g L<sup>-1</sup> e uma concentração celular de 6,98 g L<sup>-1</sup>.

Podem ser observados em todos os casos, os parâmetros cinéticos e as diferenças na concentração inicial de açúcar nos caldos de sorgo (substrato) nas quatro primeiras cultivares em que ocorreram um consumo de quase 100% dos açúcares disponíveis em um tempo de 48 h, apresentando a maior eficiência de conversão obtida com a cultivar BRS506 seguidas das demais cultivares IPA SF15; IPA P134, IPA EP17 e IPA 2502,

nas Figuras 5.5; 5.6 e 5.7 que apresentam os parâmetros cinético para as variedades IPA P2502, IPA P222 e IPA P228 obtiveram os menores resultados na produção de etanol.

A Tabela 5.1 apresenta os dados obtidos para os parâmetros cinéticos de fermentação do suco das diferentes variedades de sorgo sacarino; fator de conversão de substrato em célula ( $Y_{x/s}$ ), eficiência de conversão de açúcar em etanol (ECA), concentração de etanol P ( $g L^{-1}$ ); produtividade volumétrica de etanol,  $Q_p$  ( $g L^{-1} h^{-1}$ ) rendimento de etanol por grama de açúcar consumido ( $Y_{p/s}$ ).

**Tabela 5.1.** Parâmetros da fermentação do suco das diferentes variedades de sorgo após 48 h de fermentação

Cultivares	$Y_{x/s}$	ECA (%)	P ( $g L^{-1}$ )	$Q_p$ ( $g L^{-1} h^{-1}$ )	$Y_{p/s}$
<b>BRS506</b>	0,10	94,7 ± 0,21a	45,46 ± 1,57ab	0,94 ± 0,32ab	0,48 ± 0,0 a
<b>IPA 2502</b>	0,07	46,4 ± 0,84ab	22,3 ± 0,13c	0,46 ± 0,02c	0,37 ± 0,0 ab
<b>IPA EP17</b>	0,03	93,0 ± 0,66ab	44,6 ± 0,18ab	0,93 ± 0,03ab	0,35 ± 0,0 ab
<b>IPA P222</b>	0,03	69,8 ± 0,10b	33,57 ± 0,67bc	0,69 ± 0,14bc	0,30 ± 0,0 abc
<b>IPA P134</b>	0,08	66,2 ± 0,59ab	31,78 ± 0,28bc	0,66 ± 0,05bc	0,41 ± 0,0 ab
<b>IPA P228</b>	0,06	47,5 ± 0,37b	22,81 ± 0,58c	0,47 ± 0,12c	0,28 ± 0,0 c
<b>IPA SF15</b>	0,04	81,1 ± 0,87ab	55,72 ± 0,24a	1,16 ± 0,04a	0,48 ± 0,0 ab
<b>Média</b>	0,06	72,0 ± 0,52	36,60 ± 0,52	0,76 ± 0,10	0,36 ± 0,0

\*As médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;  $Y_{x/s}$  - Fator de conversão de substrato em célula; ECA - Eficiência de conversão de açúcar em etanol; p - Concentração de etanol ( $g L^{-1}$ );  $Q_p$  - Produtividade volumétrica de etanol ( $g L^{-1} h^{-1}$ );  $Y_{p/s}$  - Rendimento de etanol por grama de açúcar consumido.

Para o fator de conversão de substrato em célula ( $Y_{x/s}$ ), os valores que se destacaram neste trabalho encontram-se nas variedades BRS506, IPA2502, IPA P134 e IPA P228. Stropa et al. (2009) trabalhando com parâmetros cinéticos em leveduras de alambique, observaram valores para os fatores de conversão de substrato em célula na linhagem de levedura RM01 os níveis entre 0,041 e 0,044  $g g^{-1}$ .

Pode ser observado nos parâmetros cinéticos, as diferenças na concentração inicial de açúcares nos caldos de sorgo (substrato) nas quatro primeiras cultivares em que ocorreram um consumo próximo a 100% dos açúcares disponíveis em um tempo de 48 horas, mostrando a maior eficiência de conversão obtida com a cultivar BRS 506 seguidas das demais cultivares IPA SF15; IPA P134, IPA EP17 e IPA 2502 e as variedades IPA P222 e IPA P228 obtiveram os menores resultados na produção de etanol.

Yuvraj et al. (2013), empregando caldo de sorgo sacarino suplementado com peptona, extrato de levedura e  $MgSO_4$ , obteve, em 24 h, rendimento de 79% em fermentação em Erlenmeyer e de 82% em biorreator.

As concentrações de etanol neste trabalho, foram para as variedades BRS506, IPA SF15, IPA P134, IPA EP17 e IPA 2502 com valores entre  $92,75 \pm 0,21$ ;  $81,12 \pm 0,87$ ;  $79,21 \pm 0,59$ ;  $69,35 \pm 0,66$  e  $68,34 \pm 0,84\%$  respectivamente e as menores eficiências nas cultivares IPA P228 e IPA P222 com os valores em  $55,14 \pm 0,37$  e  $58,12 \pm 0,10\%$  respectivamente, valores estes próximos aos pesquisados por Guigou et al. (2011) em suco de sorgo sacarino que encontraram valores entre de 68 – 94%, Wu et al. (2007) trabalhando com suco de sorgo sacarino para obtenção de etanol encontraram média de 92,45% e Dutra et al. (2011), trabalhando com 10 variedades de sorgo sacarino, encontraram média 89%.

Os valores que se destacaram quanto aos parâmetros concentração de etanol, estão apresentados nas cultivares BRS506, IPA EP17, IPA P134 e IPA SF15 com valores entre  $45,46 \pm 1,57$ ;  $44,6 \pm 0,18$ ;  $33,57 \pm 0,67$ ;  $31,78 \pm 0,28$  e  $55,72 \pm 0,24 \text{ g L}^{-1}$  respectivamente, valores estes baixos, quando comparados com os encontrados por Dutra et al., (2011) que ao trabalharem com as variedades de sorgo sacarino Willey, Wray e BRS506 para obtenção de etanol de 1ª geração encontraram concentrações de etanol  $64,77$ ;  $59,10$  e  $59,07 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente.

Os valores para produtividade volumétrica nas cultivares BRS506, IPA 2502, IPA EP17, IPA P222, IPA P134, IPA P228 e IPA SF15 com os valores entre  $0,94 \pm 0,32$ ;  $0,46 \pm 0,02$ ;  $0,93 \pm 0,03$ ;  $0,69 \pm 0,14$ ;  $0,66 \pm 0,05$ ;  $0,47 \pm 0,12$  e  $1,16 \pm 0,04 \text{ g L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  respectivamente, são próximos aos encontrados por Chuck-Hernández et al. (2012), que trabalhando com fermentação de caldo de sorgo sacarino, encontraram para produtividade volumétrica valores entre 0,832 e  $0,428 \text{ g L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  e Yuvraj et al. (2013), encontraram valor acima dos encontrados nesta pesquisa, empregando caldo de sorgo sacarino suplementado com peptona, extrato de levedura e  $MgSO_4$ , obteve, em 24 h, produtividade máxima de  $3,2 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  etanol.

Os rendimentos de etanol por grama de açúcar consumido ( $Y_p/s$ ) com maiores valores estão apresentados nas cultivares BRS506, IPA 2502, IPA EP17, IPA P134 e IPA SF15 em  $0,47 \pm 0,02$ ;  $0,35 \pm 0,04$ ;  $0,35 \pm 0,00$ ;  $0,40 \pm 0,03$  e  $0,41 \pm 0,04$  respectivamente, valores estes próximos aos pesquisados por Trupia et al. (2013) que ao trabalharem com caldo de sorgo sacarino na concentração de 13,7% de açúcares

redutores obtiveram rendimento de aproximadamente 89%, com rendimento de etanol por grama de açúcar consumido na fermentação em 0,44; 0,38 e 0,40.

#### 5.1.1. Velocidade máxima do crescimento microbiano para etanol de 1ª geração

Na Tabela 5.2, estão descritos os dados obtidos para os parâmetros cinéticos de fermentação do suco das diferentes variedades de sorgo sacarino, avaliando velocidade máxima  $\mu\text{m (h}^{-1}\text{)}$ .

**Tabela 5.2.** Parâmetros cinéticos de fermentação do suco das diferentes variedades de sorgo sacarino, avaliando velocidade máxima  $\mu\text{m (h}^{-1}\text{)}$ .

<b>Cultivares</b>	<b><math>\mu\text{m (h}^{-1}\text{)}</math></b>
<b>BRS506</b>	0,033
<b>IPA 2502</b>	0,022
<b>IPA EP17</b>	0,022
<b>IPA P222</b>	0,023
<b>IPA P134</b>	0,021
<b>IPA P228</b>	0,019
<b>IPA SF15</b>	0,019
<b>Média geral</b>	0,018

Observa-se nas figuras presentes no Apêndice A1 a A7, as velocidades específicas do crescimento microbiano para produção de etanol de 1ª geração.

As velocidades de crescimento microbiano nas variedades de sorgo sacarino BRS506, IPA P2502, IPA EP17, IPA P222 e IPA SF15, obtiveram valores que se destacaram entre 0,033; 0,022; 0,022 e 0,022  $\text{h}^{-1}$  respectivamente, valores estes próximos aos encontrados por Toniato (2013), que ao trabalhar com quatro linhagens de leveduras em caldo de cana-de-açúcar encontrou velocidades de crescimento microbiano entre 0,08 e 0,050  $\text{h}^{-1}$ .

## 6. Potencialidades para etanol de 2ª geração

Neste capítulo constam as caracterizações físicas e químicas dos bagaços das diferentes cultivares nas condições *in natura*, pré-tratado ácido e básico, e hidrólise enzimática para produção de açúcares fermentescíveis nas duas variedades de sorgo sacarino BRS506 e IPA EP17 para produção de etanol de 2ª geração.

A caracterização físico-química do material lignocelulósico visa conhecer a composição do conteúdo estrutural vegetal a ser pesquisado, assim como conhecer a distribuição granulométrica da biomassa, bem como grau de cristalinidade, comportamento da degradação térmica e a morfologia do material.

A Tabela 6.1 apresenta os valores para caracterização lignocelulósica dos colmos *in natura* nas diferentes cultivares de sorgo sacarino BRS506, IPA 2502, IPA EP17, IPA P222, IPA P134, IPA P228 e IPA SF15, utilizando os parâmetros quanto a: umidade, zas, extrativos, lignina, celulose e hemicelulose.

**Tabela 6.1.** Composição do material lignocelulósico do colmo das sete diferentes cultivares de sorgo sacarino *in natura*.

Cultivar	Umidade (%)	Cinzas (%)	Extrativo (%)	Lignina (%)	Celulose (%)	Hemice-lulose (%)	B. Massa (%)
<b>BRS506</b>	8,79 ± 0,59	4,60 ± 0,03	7,04 ± 1,5	20,85 ± 0,86	40,6 ± 1,1	22,36 ± 0,84	104,2
<b>IPA 2502</b>	6,16 ± 0,39	2,65 ± 1,1	9,12 ± 1,6	19,34 ± 0,14	23,16 ± 1,8	39,78 ± 1,8	100,17
<b>IPA EP17</b>	6,63 ± 0,48	4,47 ± 0,07	10,70 ± 0,9	16,23 ± 1,1	31,7 ± 0,49	30,34 ± 1,4	100,07
<b>IPA P134</b>	9,26 ± 0,12	4,55 ± 0,91	11,69 ± 1,4	12,69 ± 0,46	35,24 ± 1,2	25,60 ± 1,4	99,05
<b>IPA P228</b>	9,29 ± 0,48	4,07 ± 0,94	9,80 ± 1,4	16,80 ± 0,92	41,07 ± 1,6	20,97 ± 1,5	102
<b>IPA P222</b>	9,39 ± 0,96	4,04 ± 0,44	13,99 ± 1	12,82 ± 1,21	25,07 ± 0,9	37,03 ± 0,86	102,3
<b>IPA SF15</b>	8,19 ± 0,86	2,63 ± 0,11	7,02 ± 1,1	19,3 ± 0,85	25,04 ± 0,9	37,64 ± 1,04	99,82

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



Como pode ser visto na Tabela 6.1, caracterização da composição lignocelulósica das sete diferentes cultivares de sorgo sacarino *in natura*, para os parâmetros umidade, apresentam os mais baixos resultados nas variedades estudadas IPA 2502, IPA EP17, BRS506 e IPA SF15 com os valores em  $6,16 \pm 0,39$ ;  $6,63 \pm 0,48$ ;  $8,79 \pm 0,59$  e  $8,19 \pm 0,86$  respectivamente, valores estes próximos aos encontrados por Campos et al. (2015), que trabalhando com hidrólise do bagaço de sorgo sacarino para disponibilização de açúcares fermentescíveis encontrou na amostra *in natura* valores de 6,44% de umidade, valores estes diferentes quando comparados como os encontrados por Barcelos et al. (2011), que ao estudarem o aproveitamento do sorgo sacarino para produção de bioetanol, encontraram um teor de umidade de 14,3%.

Para os valores obtidos para cinzas após caracterização da composição lignocelulósica nas variedades de sorgo sacarino *in natura*, os menores valores estão apresentados pelas variedades IPA SF15 e IPA 2502 com valores entre  $2,63 \pm 0$  e  $2,65 \pm 1,1$  respectivamente, valores estes próximos aos encontrados por Oliveira et al. (2009) que trabalhando com bagaço de sorgo *in natura* lavado e não lavado encontraram médias referente a cinzas entre 2,6 e 2,8%. Banerjee et al. (2010), trabalhando com bagaço de cana-de-açúcar encontraram 2 a 3%, valores esses próximos aos encontrados nesse trabalho.

Os teores mais baixos de extrativos encontrados na caracterização dos bagaços das variedades de sorgo sacarino *in natura* BRS506 e IPA SF15 apresentam valores entre  $7,04 \pm 1,5$  e  $7,02 \pm 1,1$  respectivamente, estes valores encontra-se abaixo quando comparados com os encontrados por Philippini (2012) que ao trabalhar com cinco variedade de cana-de-açúcar, encontrou um percentual médio para extrativo entre 9 e 10% e ao comparar com os valores encontrados por Canilha et al. (2010) que encontraram para extrativos bagaço de cana-de-açúcar valores entre 8,7 e 9,38%. E ao comparar com dados encontrados por Barcelos (2014) que estudando a fração celulósica do bagaço de sorgo sacarino, encontrou teores de extrativos na faixa de 42,04%, valor esse acima dos encontrados no presente trabalho, podendo ser atribuídos à quantidade de taninos, pigmentos, alcalóides, óleos essenciais, resinas, graxas e também dos açúcares constituintes do caldo do sorgo, uma vez que após a colheita desta gramínea, os colmos passaram por um simples processo de moagem.

Para o teor de lignina encontradas nos bagaços de sorgo sacarino *in natura*, se destacam os valores com menor concentração nas variedades IPA P134 e IPA P222 com percentual de  $12,69 \pm 0,46$  e  $12,82 \pm 1,21$  respectivamente, estes valores são próximos

aos encontrados por Khalil et al. (2015) que ao trabalharem com cinco variedades de sorgo sacarino para determinar a evolução na produção de etanol a partir do bagaço, encontraram na matéria prima *in natura*, média para lignina entre 6,19 e 12,30%.

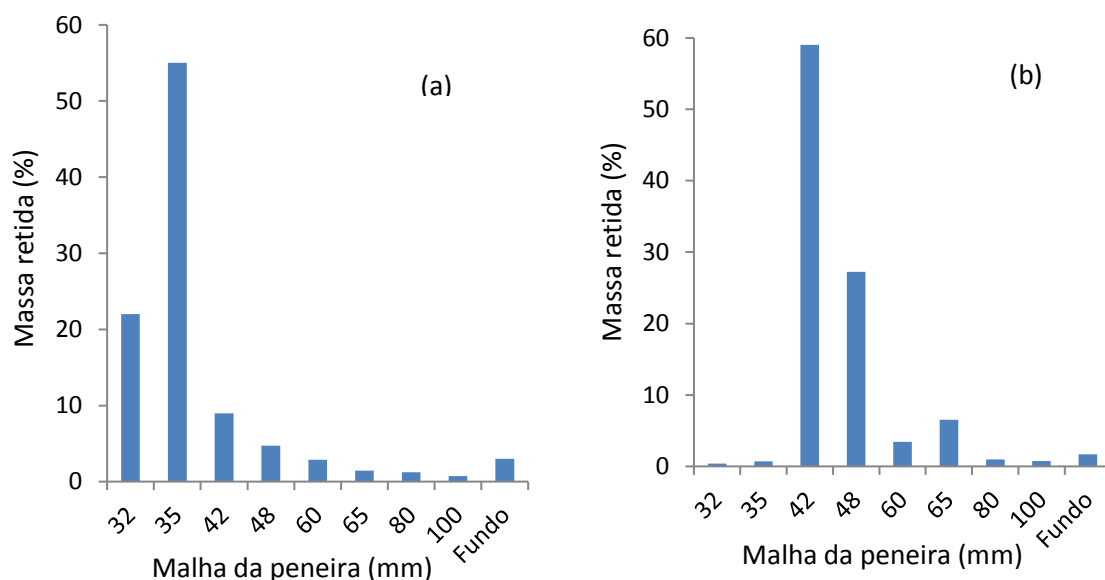
Os valores para celulose com maiores concentrações foram encontrados nas variedades *in natura*, IPA P228, BRS506, IPA P134 e IPA EP17 com percentual entre 41,07; 40,6; 35,24 e 31,70% respectivamente, resultados estes próximos aos encontrados por Pacheco (2012) trabalhando com quatro genótipos de sorgo sacarino para a produção de etanol celulósico, encontrou valores na caracterização material *in natura* para celulose de 32,81 e 36,50%. Barcelos (2014) trabalhando com bagaço de sorgo sacarino encontrou em sua pesquisa valores baixos para celulose entre 21,26%, podendo ser explicado pelo alto teor de extrativos contidos no material.

As menores concentrações de hemicelulose encontradas no bagaço de sorgo sacarino *in natura* foram nas cultivares BRS506, IPA P222 e IPA EP17 com valores entre  $22,36 \pm 0,84$ ;  $20,97 \pm 1,5$  e  $25,60 \pm 1,4\%$  respectivamente, resultados estes próximos aos encontrados por Philippini (2012), que avaliando bagaço de cinco variedades de cana-de-açúcar encontrou um percentual de hemicelulose na caracterização lignocelulósica variando entre 23 e 26%, e aos encontrados por Pacheco (2012) que trabalhando com avaliação do bagaço de genótipos de sorgo sacarino para a produção de etanol celulósico, encontrou valores para hemicelulose que variaram entre 16,11 e 20,4%.

## 6.1. Análise Granulométrica

Após determinação das composições química das sete variedades de sorgo sacarino, as cultivares BRS506 e IPA EP17 foram escolhidas para produção de etanol de 2ª geração, variedades estas que apresentaram desempenho satisfatório na produção de etanol de 1ª geração. As análises das distribuições granulométricas dos bagaços na condição *in natura* estão apresentadas nas Figuras 6.1 para BRS506 (a) e IPA EP17 (b) respectivamente.

**Figura 6.1.** Granulometrias dos bagaços *in natura* cultivares BRS506 (a) e IPA EP17 (b).

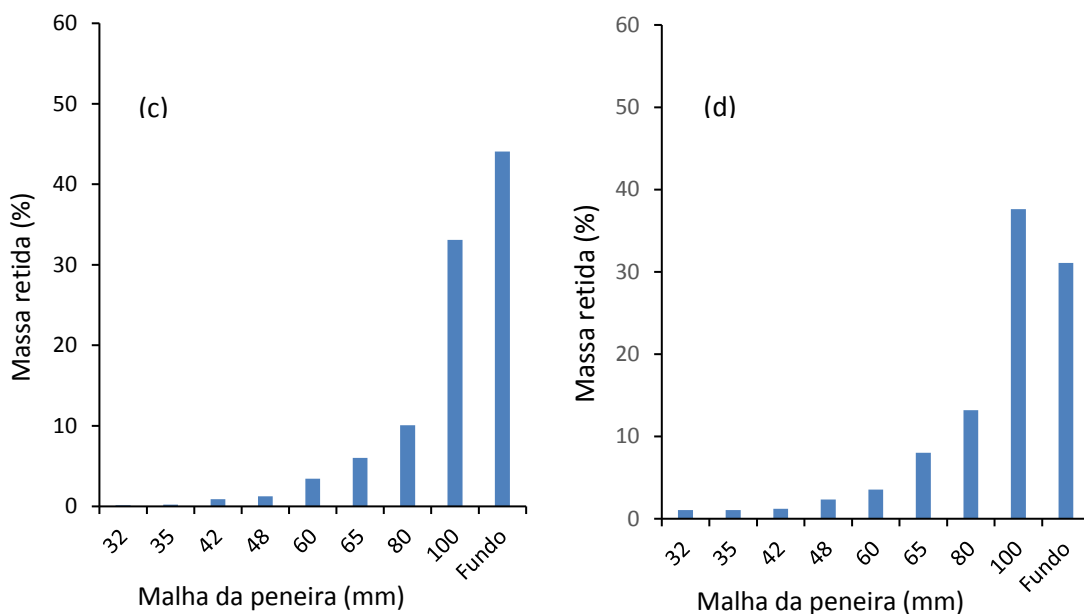


Os diâmetros de Sauter foram encontrados nas Figuras 6.1 (a) e (b) para os bagaços de sorgo *in natura* BRS506 e IPA EP17, foram de 0,22 e 0,21 mm, respectivamente.

Percebe-se que a maior concentração de partículas retidas na peneira 35 para BR506 e na peneira 42 para IPA EP17.

Após o pré-tratamento ácido seguido de básico nos materiais lignocelulósicos para produção de etanol de 2ª geração das cultivares BRS 506 e IPA EP17, foram obtidas distribuições granulométricas apresentadas na Figura 6.2 (c) e (d).

**Figura 6.2.** Granulometrias dos bagaços pré-tratados ácido e básico das cultivares BRS506 (c) e IPA EP17 (d).



Na Figura 6.2 (c) e (d), observou-se que houve uma diminuição no tamanho das partículas, ficando para o gráfico (c) que corresponde a variedade BRS506, a maior parte das partículas retidas nas peneiras 80, 100 mm e fundo, cujos percentuais foram em torno de 10, 33 e 44% respectivamente, apresentando um diâmetro de Sauter em 0,16 mm. Para o gráfico (d) que corresponde a variedade IPA EP17, o percentual máximo de material retido nas peneiras 65, 80, 100 mm e fundo, cujos percentuais ficaram em torno de 8, 13,17; 37,6 e 31% respectivamente, apresentando um diâmetro de Sauter em 0,18 mm. Estes valores evidenciam a redução no tamanho das partículas após processo de pré-tratamento ácido seguido de base, valores estes próximos aos encontrados por Campos et al. (2015) que trabalhando com pré-tratamento de bagaço de sorgo sacarino encontraram valores granulométricos do material *in natura* em 0,57 mm e para material pré-tratado básico seguido de ácido em 0,18 mm, e em trabalho desenvolvido por Moraes (2010) estudando bagaço de cana-de-açúcar para produção de bioetanol de 2ª geração, encontrou em pré-tratamentos valores entre para diâmetro de Sauter entre 2,5 e 1,1 mm nos bagaços *in natura* e pré-tratados, estes acima dos encontrados no presente trabalho.

## 6.2. Caracterização do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17

Estão descritos na Tabela 6.2 os resultados obtidos para umidade, cinzas, extrativos, lignina, celulose e hemicelulose caracterizados no bagaço da variedade do sorgo sacarino IPA EP17 *in natura*, pré-tratada ácido e ácido seguido de base.

**Tabela 6.2.** Caracterização físico-química do bagaço de sorgo sacarino na variedade IPA EP17 *in natura*, pré-tratado ácido e ácido seguido de base.

Parâmetros analisados	<i>in natura</i> (%)	Pré-tratado ácido (%)	Pré-tratado ácido seguido de base (%)
Umidade	5,63 ± 0,39	4,26 ± 0,28	5,18 ± 0,30
Cinzas	3,47 ± 0,07	2,38 ± 0,11	2,41 ± 0,23
Extrativos	10,7 ± 0,87	5,19 ± 0,62	5,14 ± 0,72
Lignina	18,23 ± 1,1	21,17 ± 0,42	13,74 ± 0,21
Celulose	31,70 ± 0,49	54,45 ± 0,75	60,42 ± 0,91
Hemicelulose	30,34 ± 1,4	12,56 ± 0,51	12,22 ± 0,76
Σ	100 ± 0,86	100 ± 0,66	99,11 ± 0,72

Verificou-se na Tabela 6.2 que o teor de umidade, cinzas, extrativos e hemicelulose foram reduzidos do material *in natura* após as etapas de tratamentos ácido e básico.

A umidade encontrada para o bagaço do sorgo sacarino IPA EP17 *in natura* foi de 5,63 ± 0,39%, já para o bagaço tratado com ácido foi de 4,26 ± 0,28%, valores estes próximos aos encontrados por Oliveira e Vasconcelos (2011), que estudando a caracterização físico-química do bagaço de sorgo sacarino para produção de etanol de 2ª geração, encontraram teor de umidade em 7,44. Barcelos (2012), estudando o aproveitamento total do sorgo sacarino para produção de bioetanol encontrou um teor de umidade de 14,3%, valor esse acima do encontrado neste trabalho.

O teor de cinzas encontrado para o bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 *in natura* foi de 3,47 ± 0,07% e para o pré-tratado ácido e básico foram entre 2,38 ± 0,11; 2,41 ± 0,23% respectivamente, valores estes reduzidos por haver solubilização em torno dos compostos minerais após a etapa de pré-tratamento. Panagiatopoulos et al. (2010), trabalhando com bagaço de sorgo sacarino, encontrou valor para cinzas de 3,7%. Philippini (2012) encontrou para cinco variedades de cana-de-açúcar *in natura* um percentual em cinzas variando entre 0,58 a 0,80%.

Para o teor de lignina e celulose ocorreram um aumento após a etapa do pré-tratamento ácido, por causa da solubilização da hemicelulose no bagaço, já após o pré-tratamento ácido seguido de básico houve acréscimo no percentual da celulose e uma leve redução na hemicelulose em decorrência da solubilização da lignina.

O teor de lignina encontrado no bagaço de sorgo sacarino variedade IPA EP17 *in natura* foi de  $16,23 \pm 1,1\%$ , e após pré-tratamento ácido e básico foram entre  $21,17 \pm 0,42$  e  $13,74 \pm 0,21\%$  respectivamente, ocorrendo um aumento na lignina, verificando que a etapa de solubilização da hemicelulose a partir do pré-tratado ácido evidenciou o teor de lignina e logo após tratamento ácido seguido de básico para solubilização da mesma ocorreu uma redução, valores estes próximos aos encontrados por Philippini (2012) que estudando cinco variedades de bagaço de cana-de-açúcar *in natura* encontrou um percentual de lignina em torno de 20% e após pré-tratamento ácido e básico, obteve valores em 15%. Pires et al. (2006) estudando bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado encontrou valores para lignina entre 2,5 e 7,5%, estes abaixo dos encontrados no presente trabalho.

O percentual de celulose encontrado no bagaço *in natura* de sorgo sacarino IPA EP17 foi de  $31,70 \pm 0,49\%$  e após o material passar pelos pré-tratamentos ácido e básico houve um aumento de  $54,45 \pm 0,75$  e  $60,42 \pm 0,91\%$ , mostrando que o processo de solubilização da hemicelulose e da lignina expôs a celulose de uma forma efetiva, valores estes próximos aos encontrados por Oliveira e Vasconcelos (2011) trabalhando com pré-tratamentos da palha de cana-de-açúcar para produção de açúcares fermentescíveis, encontrou um percentual de celulose em 38,1% e para palha pré-tratada ácida encontrou percentual em 59,1% de celulose total e após tratamento ácido seguido de básico 62,19%, Philippini (2012) pesquisando bagaço de cinco variedades de cana-de-açúcar para produção de bioetanol, encontrou um percentual de celulose total de 40% no material *in natura* e 75% de celulose total após pré-tratamento ácido seguido de base.

A hemicelulose encontrada nesse trabalho para bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 *in natura* foi de  $30,34 \pm 1,4\%$  e para o bagaço após pré-tratamento ácido e ácido seguido de básico foram  $12,56 \pm 0,51$  e  $12,22 \pm 0,76\%$  respectivamente, o processo mostra que a hemicelulose no bagaço foi solubilizada havendo redução da mesma, resultados próximos aos encontrados por Bernardino et al. (2012) que ao trabalharem com vinte e cinco variedades de sorgo sacarino *in natura* encontrou uma variação para hemicelulose entre 17 a 24% e após pré-tratamento o teor foi reduzido de 11 e 12%.

### 6.3. Caracterização do bagaço de sorgo sacarino BRS506

Encontra-se descritas na Tabela 6.3, a caracterização do sorgo sacarino da variedade BRS506 nas condições *in natura*, pré-tratada ácido e ácido seguido de básico quanto a: umidade, cinzas, extrativos, lignina, celulose e hemicelulose.

**Tabela 6.3.** Caracterização físico-química do bagaço de sorgo sacarino na variedade BRS506 *in natura*, pré-tratado ácido e ácido seguido de básico.

Parâmetros analisados	<i>In natura</i> (%)	Pré-tratado ácido (%)	Pré-tratado ácido seguido de base (%)
Umidade	7,79 ± 0,59	2,40 ± 0,76	4,54 ± 0,44
Cinzas	4,60 ± 0,03	2,80 ± 0,2	2,85 ± 0,50
Extrativos	7,04 ± 1,5	4,69 ± 0,23	4,60 ± 0,11
Lignina	20,85 ± 0,86	22,56 ± 0,54	12,15 ± 0,6
Celulose	40,6 ± 1,1	61,11 ± 0,98	64,52 ± 0,82
Hemicelulose	22,36 ± 0,84	9,56 ± 0,75	10,35 ± 0,34
Σ	103,2 ± 0,90	103,1 ± 0,76	99,01 ± 0,68

Podem ser observados na Tabela 6.3, os teores de umidade, cinzas, extrativos e hemicelulose foram reduzidos do material *in natura* após a etapa de tratamento ácido e ácido seguido de básico para solubilização da hemicelulose e lignina.

O teor de umidade e cinzas encontrados para sorgo sacarino BRS506 *in natura* foram 7,79 ± 0,59% e após pré-tratado ácido e ácido seguido de básico o percentual foi de 2,40 ± 0,76 e 4,54 ± 0,44% respectivamente, para cinzas *in natura* 4,60 ± 0,03% e após pré-tratamento ácido e ácido seguido de básico foi de 2,08 ± 0,2 e 2,85 ± 0,50% respectivamente, valores estes próximos aos encontrados por Campos et al. (2015) que trabalhando com hidrólise do bagaço de sorgo sacarino para disponibilização de açúcares fermentescíveis encontrou na amostra *in natura* valores de 6,44% de umidade e pós tratamento ácido e básico encontrou percentuais de 5,11 e 5,51% respectivamente, para cinzas *in natura* de 5,76% e após tratamento ácido e ácido seguido de básico valores de 5,25 e 5,12% respectivamente.

O teor de lignina encontrado no bagaço de sorgo sacarino variedade BRS 506 *in natura* foi entre 20,85 ± 0,86% e após pré-tratamento ácido e ácido seguido de básico foi de 22,56 ± 0,54 e 12,15 ± 0,6% respectivamente, ocorrendo um aumento de lignina

observado na etapa de solubilização da hemicelulose a partir do pré-tratado ácido evidenciando o teor de lignina e logo após tratamento básico para solubilização da mesma ocorreu uma redução, valores estes próximos aos encontrados por Khalil et al. (2015) que trabalhando com cinco variedades de sorgo sacarino para determinar a evolução na produção de etanol a partir do bagaço, encontraram na matéria prima após pré-tratamento, valores médios para lignina entre 6,19 e 11,30% e Pires et al. (2006) ao estudar bagaço de cana-de-açúcar que apresentam teores de lignina entre 20 a 25%, utilizando pré-tratamento em diversas concentrações de NaOH, obtiveram valores para lignina em 13; 13,5 e 14,5% respectivamente.

As concentrações de celulose e hemicelulose encontradas para variedade BRS 506 nas condições *in natura* foi entre  $40,6 \pm 1,1\%$  para celulose e  $22,36 \pm 0,84\%$  para hemicelulose, após pré-tratamento ácido o percentual de celulose teve um aumento para  $61,11 \pm 0,98\%$  e o teor de hemicelulose decresceu para  $9,56 \pm 0,75\%$ . Após pré-tratamento ácido seguido de básico o teor de celulose foi para  $64,52 \pm 0,82$  e o percentual de hemicelulose para  $10,35 \pm 0,34\%$ , estes valores ao serem comparados com os encontrados por Pacheco et al. (2012) que trabalhando com quatro genótipos de sorgo sacarino para a produção de etanol celulósico, encontraram valores próximos ao deste trabalho, tanto na caracterização material *in natura* para celulose de 40,50; 32,81; 33,84; e 33,76% e para hemicelulose de 20,5; 16,11; 16,8 e 16,4%, obtendo valores após pré-tratamentos entre 60 a 54% de celulose e 6 a 8% de hemicelulose.

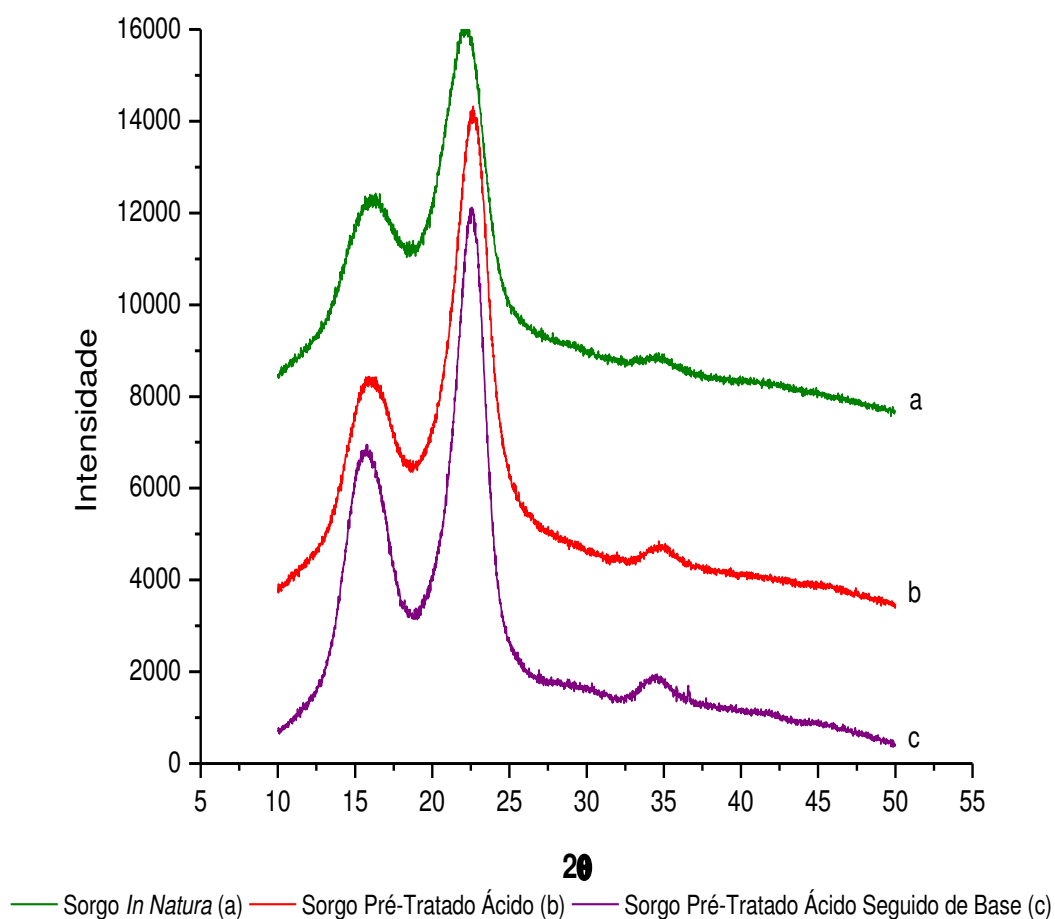


#### 6.4. Determinação da cristalinidade por difração de raios X (DRX)

Foram realizadas as análises para difratograma de raios – X, nos bagaços de sorgo sacarino das variedades IPA EP17 e BRS506 nas condições *in natura* e pré-tratados ácido e ácido seguido de básico, para obter os índices cristalinidade para cada material.

A Figuras 6.3 mostra os difratogramas de raios X, para os bagaços de sorgo sacarino IPA EP17 *in natura*, pré-tratados ácido e ácido seguido de base.

**Figura 6.3.** Difratograma de raios X dos bagaços da variedade IPA EP17 na condição *in natura* (a) e pré-tratado ácido (b) e básico (c).

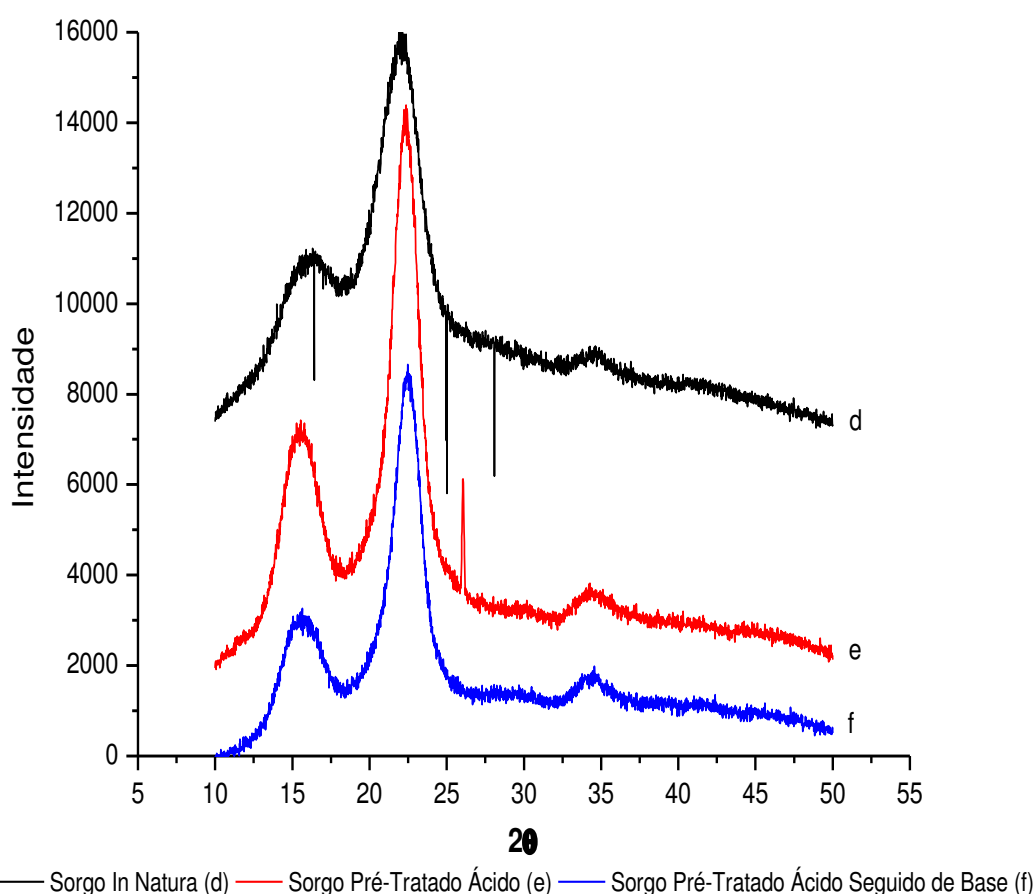


Pode ser observado na Figura 6.3 os picos definidos da celulose cristalina nos difratogramas de raios X dos bagaços da variedade IPA EP17 na condição *in natura* (a), pré-tratado ácido (b) e ácido seguido de básico (c). Segundo Zhao et al. (2009) a

intensidade nos picos cristalinos ocorre por causa dos pré-tratamentos que fez a remoção da lignina e da hemicelulose as quais são estruturas amorfas, evidenciando a celulose, a grande maioria dos pré-tratamentos expõe a celulose e os picos cristalinos existente na mesma.

A Figuras 6.4, apresentam os difratogramas de Raios - X, para os bagaços de sorgo sacarino BRS 506 *in natura*, pré-tratados ácido e ácido seguido de básico.

**Figura 6.4.** Difratograma de raios X dos bagaços da variedade BRS 506 na condição *in natura* (d) e pré-tratado ácido (e) e básico (f).



A figura 6.4 apresentam os picos cristalinos nos difratogramas de Raios - X, para os bagaços de sorgo sacarino BRS506 nas condições *in natura*, pré-tratados ácido e ácido seguido de básico, expondo a intensidade da celulose cristalina a cada etapa de pré-tratamento. Segundo SIQUEIRA (2006) o aumento da cristalinidade já é esperado, uma vez que a remoção através dos pré-tratamentos de grande parte da lignina e das

hemiceluloses, porção amorfa das fibras, permite um melhor empacotamento das cadeias de celulose.

Os índices de cristalinidade para todas as amostras de bagaços, foram calculados a partir da equação 10 do capítulo 3. Os resultados encontram-se apresentados na Tabela 6.4, onde pode ser observado os índices nos bagaços para as variedades de sorgo sacarino IPA EP17 e BRS506 nas condições *in natura*, pré-tratado ácido e pré-tratado ácido seguido de básico, que mostra uma melhor definição nos picos da amostras pré-tratadas e um aumento de intensidade após cada tratamento.

**Tabela 6.4.** Índices de cristalinidade encontrados na celulose dos bagaços dos sorgos sacarinos IPA EP17 e BRS 506 *in natura* e pré-tratados

Cultivares	Índice de cristalinidade (%) <i>in natura</i>	Índice de cristalinidade (%) pré-tratado ácido	Índice de cristalinidade (%) pré-tratado básico
IPA EP17	31,25	53	75
BRS506	37,05	71,42	88,25

Os valores para difração de raio – X para as variedades IPA EP17 na condição *in natura*, pré-tratado ácido e ácido seguido de básico, estão apresentados na Tabela 6.4 com valores entre 31,25; 53 e 75% respectivamente. Para variedade BRS506 os valores para índice de cristalinidade encontram-se entre 37,05; 71,42 e 88,25% respectivamente, valores estes que apresentam o mesmo comportamento quando comparado com os encontrados por Campos et al. (2015) trabalhando com pré-tratamento de deslignificação e solubilização de hemicelulose em bagaço de sorgo sacarino para obter açúcares fermentescíveis encontraram valores para índices de cristalinidade em *in natura* 51,35%, deslignificado 72% e após solubilização da hemicelulose 73,75% respectivamente.

Segundo Trindade et al. (2005), a não diminuição da cristalinidade indica que o processo não levou a degradação das cadeias de celulose.

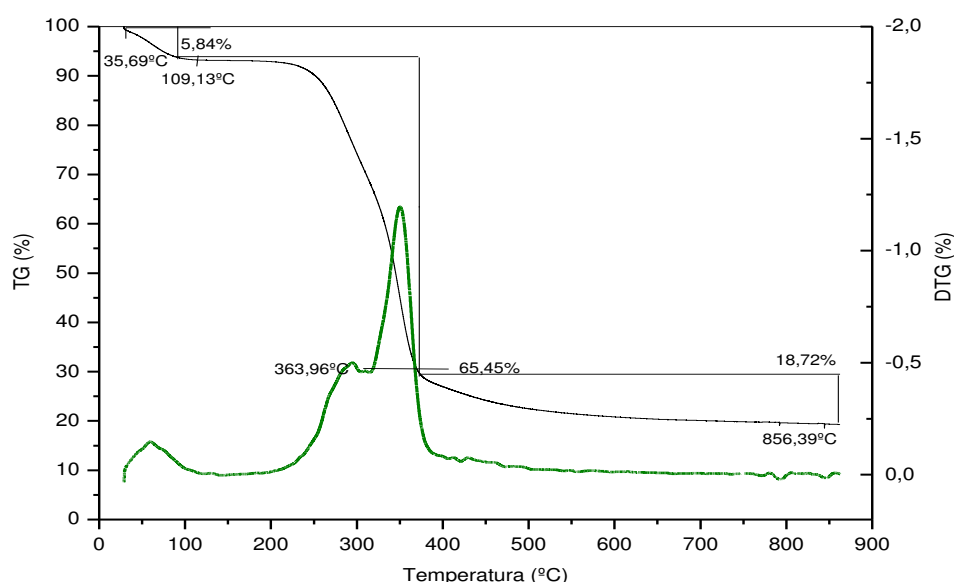
## 6.5. Caracterização térmica – (TG/DTG)

As análises termogravimétricas foram realizadas com os bagaços das variedades de sorgo sacarino IPA EP17 e BRS 506 nas condições *in natura*, pré-tratado ácido e ácido seguido de base, estando as curvas termogravimétricas (TG/DTG) apresentadas nas Figuras para IPA EP17 - 6.5, 6.6 e 6.7 e para BRS 506 – 6.8, 6.9 e 6.10 respectivamente.

### 6.5.1. Análises termogravimétricas nos bagaços de sorgo sacarino IPA EP17

A Figura 6.5 apresenta as curvas (TG/DTG) do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 *in natura*, indicando a cada faixa de temperatura a perda de umidade e massa.

**Figura 6.5.** Curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 *in natura*



Analisando as curvas TG/DTG da Figura 6.5 para o bagaço do sorgo sacarino IPA EP17 *in natura*, nota-se uma primeira perda de massa na faixa de temperatura entre 35,69 a 109,13 °C, sendo esta etapa relacionada à perda de umidade do bagaço, indicando um percentual de perda de massa em 5,84%. Em uma segunda etapa é atribuída degradação da hemicelulose e celulose ocorrendo no intervalo entre 109,13 a 363,96,88 °C, indicando 65,45% de perda de massa. A terceira etapa e última ocorreu a degradação da lignina em uma faixa de temperatura de 363,11 a 856,39 °C, indicando uma perda de 18,72% de massa.

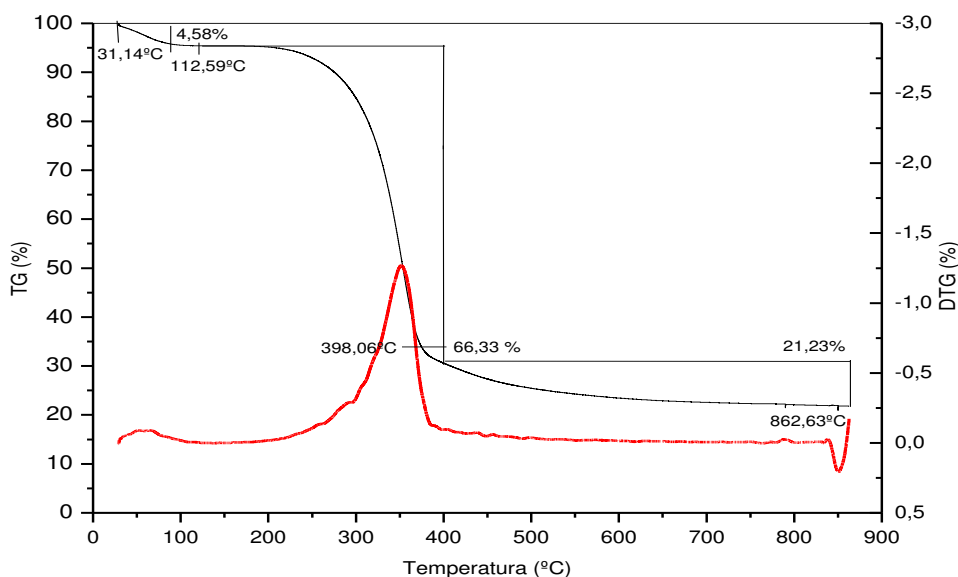
Na Tabela 6.5, pode ser observado os valores obtidos nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 na condição *in natura*.

**Tabela 6.5.** Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 na condição *in natuara*.

Amostra	Etapas	TG/DTG Faixa de temp. (°C)	Atribuições
<b>Bagaço in natura</b>	1	35,69 a 1091,13	Desidratação 5,84% de perda de massa
	2	109,13 a 363,11	Decomposição da hemicelulose e celulose 65,45% de perda de massa
	3	363,11 a 856,39	Decomposição da lignina 18,72% de perda de massa

A Figura 6.6, apresenta as curvas (TG/DTG) do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 para pré-tratado ácido, indicando a cada faixa de temperatura a perda de umidade e massa.

**Figura 6.6.** Curvas TG/DTG apresentadas para o bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado ácido



As curvas TG/DTG da Figura 6.6 para o bagaço do sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado ácido, é observado uma primeira perda de massa na faixa de temperatura entre 31,14 a 112,6 °C, sendo esta etapa relacionada a perda de umidade do bagaço, indicando um percentual de perda de massa em 4,15%. Em uma segunda etapa é atribuída degradação da hemicelulose e celulose ocorrendo no intervalo entre 112,06 a

398,16 °C, indicando 66,33% de perda de massa. A terceira etapa ocorreu a degradação da lignina em uma faixa de temperatura de 398,16 a 862,63 °C, indicando uma perda de massa de 21,23%.

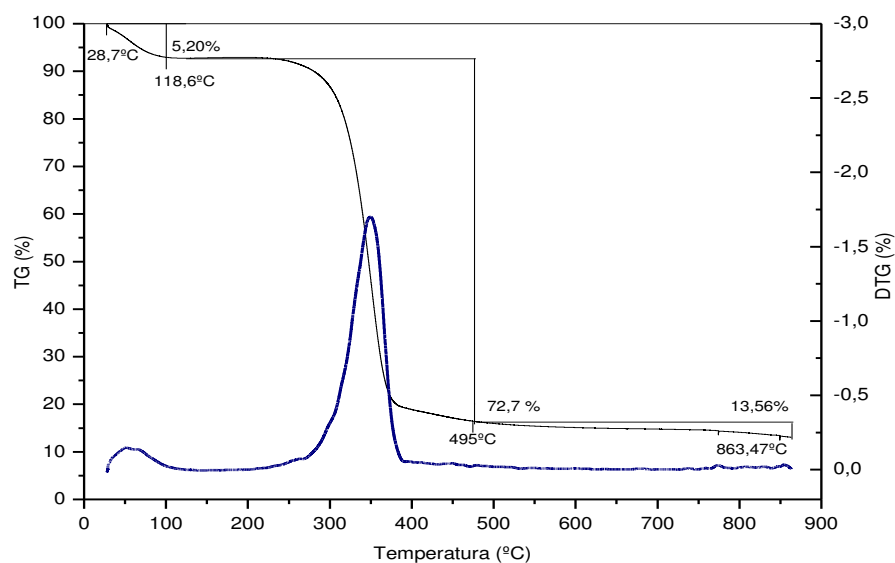
Na Tabela 6.6, pode ser observado os valores obtidos nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 na condição pré-tratado ácido.

**Tabela 6.6.** Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 na condição pré-tratado ácido

Amostra	Etapas	TG/DTG Faixa de temp. (°C)	Atribuições
<b>Bagaço Pré-tratado ácido</b>	1	31,14 a 112,6	Desidratação 4,15% de perda de massa
	2	112,6 a 398,16	Decomposição da hemicelulose e celulose 66,33% de perda de massa
	3	398,16 a 862,63	Decomposição da lignina 21,23% de perda de massa.

A Figura 6.7, apresenta as curvas (TG/DTG) do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado ácido seguido de básico, indicando a cada faixa de temperatura a perda de umidade e massa.

**Figura 6.7.** Curvas TG/DTG apresentadas para o bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado ácido seguido de básico.



Analisando as curvas TG/DTG da Figura 6.7 para o bagaço do sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado ácido seguido de básico, nota-se uma primeira perda de massa na faixa de temperatura entre 28,7 a 118,6 °C, sendo esta etapa relacionada a perda de umidade do bagaço, indicando um percentual de perda de massa em 5,20%. Em uma segunda etapa é atribuída degradação da hemicelulose e celulose ocorrendo no intervalo entre 118,6 a 495 °C, indicando 72,7% de perda de massa. A terceira etapa ocorreu a degradação da lignina em uma faixa de temperatura de 495 a 863,47 °C, indicando uma perda de 13,56% de massa.

Na Tabela 6.7, pode ser observado os valores obtidos nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 na condição pré-tratado ácido seguido de básico.

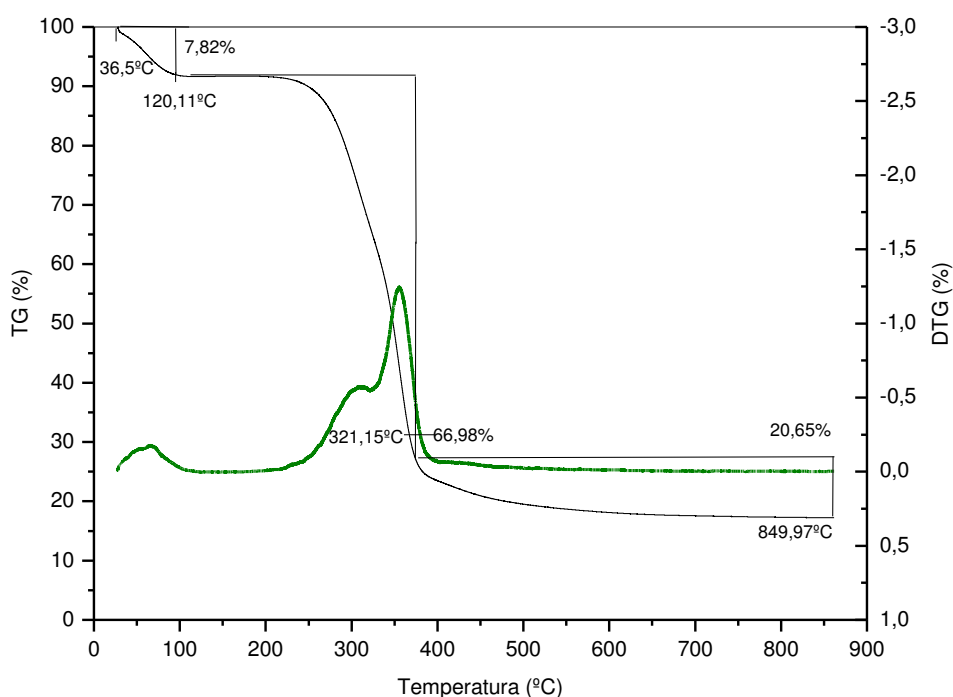
**Tabela 6.7.** Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 na condição pré-tratado ácido seguido de básico.

<b>Amostra</b>	<b>Etapas</b>	<b>TG/DTG Faixa de temp. (°C)</b>	<b>Atribuições</b>
<b>Bagaço Pré-tratado ácido seguido de básico</b>	1	28,7 a 118,6	Desidratação 5,20% de perda de massa
	2	118,6 a 495	Decomposição da hemicelulose e celulose 72,7% de perda de massa
	3	495 a 863,47	Decomposição da lignina 13,56% de perda de massa.

### 6.5.2. Análises termogravimétricas nos bagaços de sorgo sacarino BRS506

A Figura 6.8 apresenta as curvas termogravimétricas (TG/DTG) do bagaço de sorgo sacarino BRS 506 na condição *in natura*, indicando a cada faixa de temperatura a perda de umidade e massa.

**Figura 6.8.** Curvas termogravimétricas para bagaço de sorgo sacarino BRS506 *in natura*



Analisando as curvas TG/DTG da Figura 6.8 para o bagaço do sorgo sacarino BRS 506 *in natura*, nota-se uma primeira perda de massa na faixa de temperatura entre 36,5 a 120,11 °C, sendo esta etapa relacionada a perda de umidade do bagaço, indicando um percentual de perda de massa em 7,82%. Em uma segunda etapa é atribuída degradação da hemicelulose e celulose ocorrendo no intervalo entre 120,11 a 321,15 °C, indicando 66,98% de perda de massa. A terceira etapa ocorreu entre 321,15 a 849,97 °C, indicando degradação da celulose e lignina, uma perda percentual de massa em 20,65%.

Na Tabela 6.8, pode ser observado os valores obtidos nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino BRS 506 na condição *in natura*.

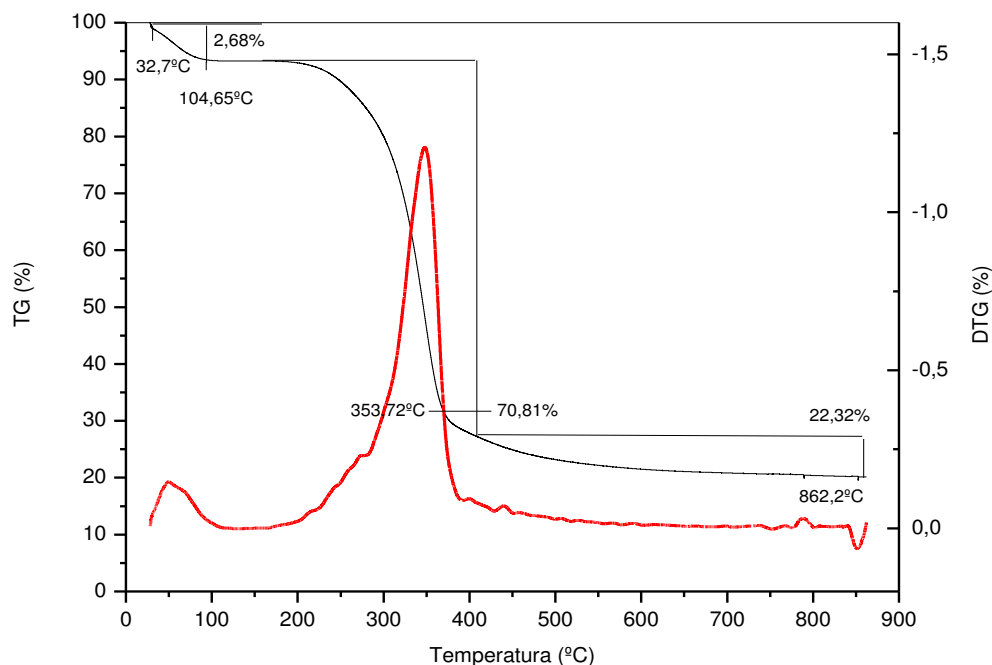


**Tabela 6.8.** Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino BRS506 na condição *in natura*

Amostra	Etapas	TG/DTG Faixa de temp. (°C)	Atribuições
<b>Bagaço <i>in natura</i></b>	1	36,5 a 120	Desidratação 7,82% de perda de massa
	2	120,11 a 321,15	Decomposição da hemicelulose e celulose 66,98% de perda de massa
	3	321,15 a 849,97	Decomposição da celulose e lignina 20,65% de perda de massa

A Figura 6.9, estão apresentadas as curvas termogravimétricas (TG/DTG) do bagaço de sorgo sacarino BRS506 na condição pré-tratado ácido, indicando a cada faixa de temperatura a perda de umidade e massa.

**Figura 6.9.** Curvas termogravimétricas para bagaço de sorgo sacarino BRS506 Pré-tratado ácido



Analisando as curvas TG/DTG da Figura 6.9 para o bagaço do sorgo sacarino BRS 506 pré-tratado ácido, nota-se uma primeira perda de massa na faixa de

temperatura entre 32,7 a 104,65 °C, sendo esta etapa relacionada a perda de umidade do bagaço, indicando um percentual de perda de massa em 2,68%. Em uma segunda etapa é atribuída degradação da hemicelulose e celulose ocorrendo no intervalo entre 104,65 a 353,72 °C, indicando 70,81% de perda de massa. A terceira etapa atribuída a degradação da celulose e lignina, ocorreu entre 353,72 a 862,2 °C, indicando uma perda percentual de massa em 22,32%.

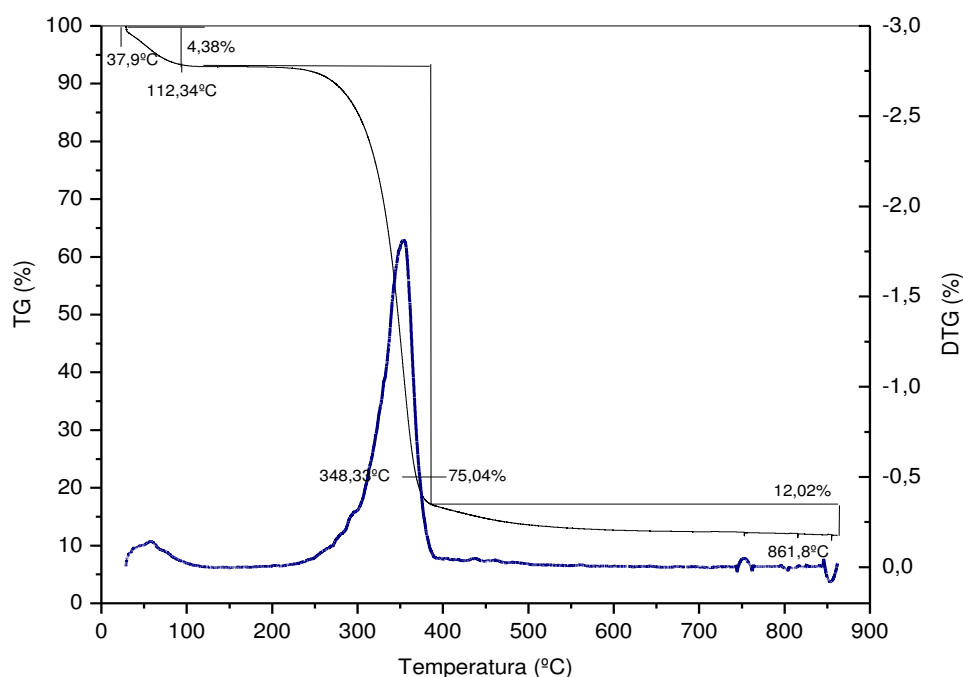
Na Tabela 6.9, pode ser observado os valores obtidos nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino BRS506 na condição pré-tratado ácido.

**Tabela 6.9.** Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino BRS506 na condição pré-tratado ácido

<b>Amostra</b>	<b>Etapas</b>	<b>TG/DTG Faixa de temp. (°C)</b>	<b>Atribuições</b>
<b>Bagaço pré-tratado ácido</b>	1	32,7 a 104,65	Desidratação 2,68% de perda de massa
	2	104,65 a 353,72	Decomposição da hemicelulose e celulose 70,81 de perda de massa
	3	353,72 a 862,2	Decomposição da celulose e lignina 22,32% de perda de massa

Estão representadas na Figura 6.10, as curvas termogravimétricas para o bagaço deuhj sorgo sacarino BRS506 na condição de pré-tratado ácido seguido de básico.

**Figura 6.10.** Curvas termogravimétricas para bagaço de sorgo sacarino BRS506 Pré-tratado ácido seguido de básico



Analisando as curvas TG/DTG da Figura 6.10 para o bagaço do sorgo sacarino BRS 506 pré-tratado ácido seguido de básico, nota-se uma primeira perda de massa na faixa de temperatura entre 37,9 a 112,34 °C, sendo esta etapa relacionada a perda de umidade do bagaço, indicando um percentual de perda de massa em 4,38%. Em uma segunda etapa é atribuída degradação da hemicelulose e celulose ocorrendo no intervalo entre 112,34 a 348,33 °C, indicando 75,04% de perda de massa. A terceira etapa atribuída a degradação da celulose e lignina, ocorreu entre 348,33 a 861,1 °C, indicando uma perda percentual de massa em 12,02%.

Na Tabela 6.10, pode ser observado os valores obtidos nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino BRS506 na condição pré-tratado ácido seguido de básico.

**Tabela 6.10.** Valores nas curvas TG/DTG do bagaço de sorgo sacarino BRS506 na condição pré-tratado ácido seguido de básico

<b>Amostra</b>	<b>Etapas</b>	<b>TG/DTG Faixa de temp. (°C)</b>	<b>Atribuições</b>
<b>Bagaço pré-tratado ácido</b>	1	37,9 a 112,34	Desidratação 4,38% de perda de massa
	2	112,34 a 348,33	Decomposição da hemicelulose e celulose 75,04 de perda de massa
	3	348,33 a 861,1	Decomposição da celulose e lignina 12,02% de perda de massa

## 6.6. Pré-tratamento do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Os resultados das concentrações de glicose e xilose obtidos nos licores do bagaço da variedade IPA EP17 após o pré-tratamento ácido são apresentados na Tabela 6.11. Foi utilizado como ferramenta para análise desse processo um planejamento fatorial 2<sup>3</sup>+3 pontos centrais.

**Tabela 6.11.** Dados obtidos para o bagaço pré-tratado com ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) para variedade EP17

Ensaio	Concentração Ácido (%)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Resultados	
				Glicose (g L <sup>-1</sup> )	Xilose (g L <sup>-1</sup> )
01	1,0	80	60	0	17,97
02	3,0	80	60	0,9	19,69
03	1,0	120	60	0,34	16,87
04	3,0	120	60	0	19,36
05	1,0	80	120	0	15,77
06	3,0	80	120	0	19,37
07	1,0	120	120	0	18,65
08	3,0	120	120	4,84	17,88
09	2,0	100	90	0,705	19,53
10	2,0	100	90	0,752	19,53
11	2,0	100	90	1,003	19,79

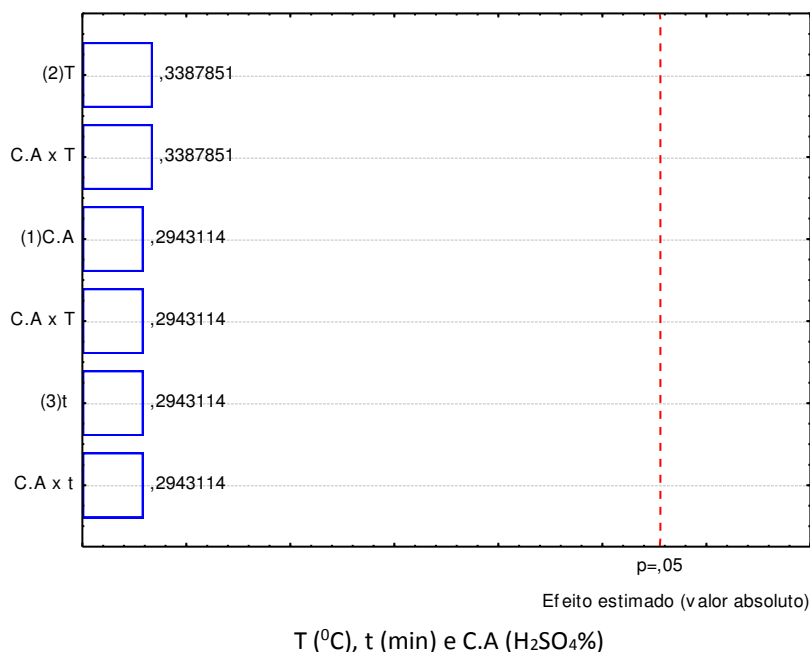
### Análise quanto a concentração de glicose (ácido)

Na Tabela 6.11, verificam-se os valores codificados e reais para as variáveis de estudo e da resposta percentual de glicose que variou de 0 a 4,84 g L<sup>-1</sup> entre os ensaios 1 a 7, e nos pontos centrais variando entre 0,70 a 1,0 g L<sup>-1</sup>.

Os pontos centrais, que apresentam condições de tratamento em concentração de ácido de 2,0%, temperatura de 100 °C e tempo em 90 min, apresentaram pequenas variações para as respostas indicando repetibilidade significativa do processo e se excetuando o experimento 10 para glicose.

O diagrama de Pareto, Figura 6.11, apresenta os dados estatísticos significativos a 95% para o pré-tratamento ácido utilizando o planejamento  $2^3+3$  pontos centrais, com as variáveis independentes temperatura, concentração e tempo, bem como a interação entre essas variáveis que influenciam na concentração de glicose. Os dados foram analisados em nível estatístico a 95% de confiança.

**Figura 6.11.** Diagrama de Pareto para pré-tratado ácida em bagaço de sorgo sacarino IPA EP17. (glicose)



Observa-se na Figura 6.11 não houve variável ou interação que apresentasse significância estatística a 95% de confiança, levando em consideração as condições estudadas.

A Tabela 6.12, apresenta a análise de variância (ANOVA) para concentração de glicose no licor pré-tratado ácido do bagaço de sorgo sacarino da variedade IPA EP17.

**Tabela 6.12.** Análise de variância (ANOVA) para o licor de pré-tratado ácido em bagaço de sorgo sacarino

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Teste F
<b>Regressão</b>	3	131,1925	43,730	0,53
<b>Resíduo</b>	7	116,8910	16,698	
<b>Total</b>	10	133,7241		
<b>% R<sup>2</sup></b>		12,58		
		<b>F<sub>tabelado</sub> = 4,84</b>	<b>F<sub>calculado</sub> = 2,61</b>	

GL - Grau de liberdade; SQ - Soma dos quadrados; QM - Quadrado médio dos desvios; Teste F - (F<sub>calculado</sub> / F<sub>tabelado</sub>).

Na Tabela 6.12, pode ser observado a análise de variância para o percentual de concentração da glicose considerando-se os parâmetros significativos.

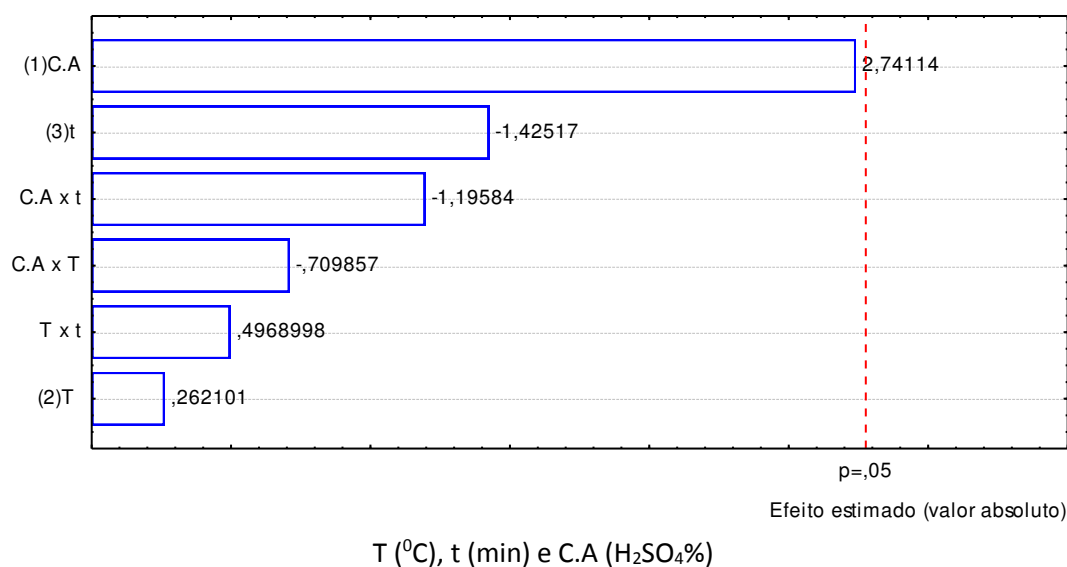
Este modelo apresenta 12,58% da variação obtida, que pode ser explicada pelo modelo e pela razão  $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$  igual a 0,53, indicando que o mesmo não se apresenta estatisticamente significativo com 95% de confiança (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

### Análise quanto a concentração de xilose (ácido)

Os melhores resultados obtidos com o pré-tratamento ácido na solubilização da hemicelulose ocorreram nos ensaios do ponto central da matriz do planejamento podendo ser observado na tabela 6.11, pois obtiveram valores entre 19,53 a 19,79 g L<sup>-1</sup> de xilose e apresentaram pequenas variações para as respostas indicando repetibilidade significativa do processo e se excetuando o experimento 10 para xilose.

O diagrama de Pareto é apresentado na Figura 6.12 para o pré-tratamento ácido utilizando o planejamento 2<sup>3</sup>+3 pontos centrais, com as variáveis independentes T (°C), Conc. ácido (%) e t (min), bem como a interação entre essas variáveis influenciam aumentando a concentração de xilose. Os dados foram analisados em nível estatístico de 95% de confiança, podendo ser observado na Tabela 6.12.

**Figura 6.12.** Diagrama de Pareto do pré-tratado ácida em bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 (xilose).



É possível observar as variáveis de entrada na Figura 6.12, temperatura, tempo e concentração foram significativas em suas interações.

A Tabela 6.13, apresenta a análise de variância (ANOVA) para concentração de xilose no licor pré-tratado ácido do bagaço de sorgo sacarino da variedade IPA EP17.

**Tabela 6.13.** Análise de variância (ANOVA) para pré-tratamento ácido na solubilização da hemicelulose e produção de xilose

<b>Fonte de variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Teste F</b>
<b>Regressão</b>	3	13,88607	4,62865	<b>0,61</b>
<b>Resíduo</b>	7	12,600	1,6	
<b>Total</b>	10	26,48627		
<b>% R<sup>2</sup></b>		<b>74,67</b>		
		<b>F<sub>tabelado</sub> = 4,72</b>	<b>F<sub>calculado</sub> = 2,89</b>	

GL - Grau de liberdade; SQ - Soma dos quadrados; QM - Quadrado médio dos desvios; Teste F - (F<sub>calculado</sub> / F<sub>tabelado</sub>).

A Tabela 6.13 apresenta a análise de variância para o percentual da xilose, tendo uma variação em 74,67%, que pode ser explicada pelo modelo e pela razão F<sub>calculado</sub>/F<sub>tabelado</sub> igual a 0,61, indicando que o mesmo não se apresenta estatisticamente significativo com 95% de confiança (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

Verifica-se que as variáveis independentes, tempo e temperatura, influenciam o aumento na produção de xilose no processo de solubilização da hemicelulose por tratamento ácido, porém a interação entre elas indica que a concentração de ácido foi de menor interação para o aumento na produção de xilose.



## 6.7. Pré-tratamento do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 (NaOH)

Os resultados para o planejamento do pré-tratamento ácido seguido de básico utilizando três variáveis de entrada; tempo, concentração de hidróxido e temperatura, sendo  $2^3 + 3$  pontos centrais, totalizando onze ensaios, esta apresentado nas concentrações encontradas para glicose e xilose na Tabela 6.14.

**Tabela 6.14.** Matriz de planejamento fatorial completo  $2^3$  para o licor pré-tratado com hidróxido de sódio (NaOH) para variedade EP17

Ensaio	Concentração de base (%)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Resultados	
				Glicose (g L <sup>-1</sup> )	Xilose (g L <sup>-1</sup> )
01	1,0	100	60	1,14	15,41
02	4,0	100	60	3,82	15,69
03	1,0	140	60	1,30	14,90
04	4,0	140	60	2,50	23,53
05	1,0	100	120	2,36	17,80
06	4,0	100	120	4,78	18,15
07	1,0	140	120	5,22	20,88
08	4,0	140	120	1,54	23,75
09	2,5	120	90	4,46	17,76
10	2,5	120	90	4,34	19,55
11	2,5	120	90	5,73	17,88

Para analisar a significância dos fatores utilizados no planejamento experimental em relação aos dados obtidos para as concentrações de glicose e xilose. Utilizou-se da regressão linear dos dados experimentais com 95% de confiança.

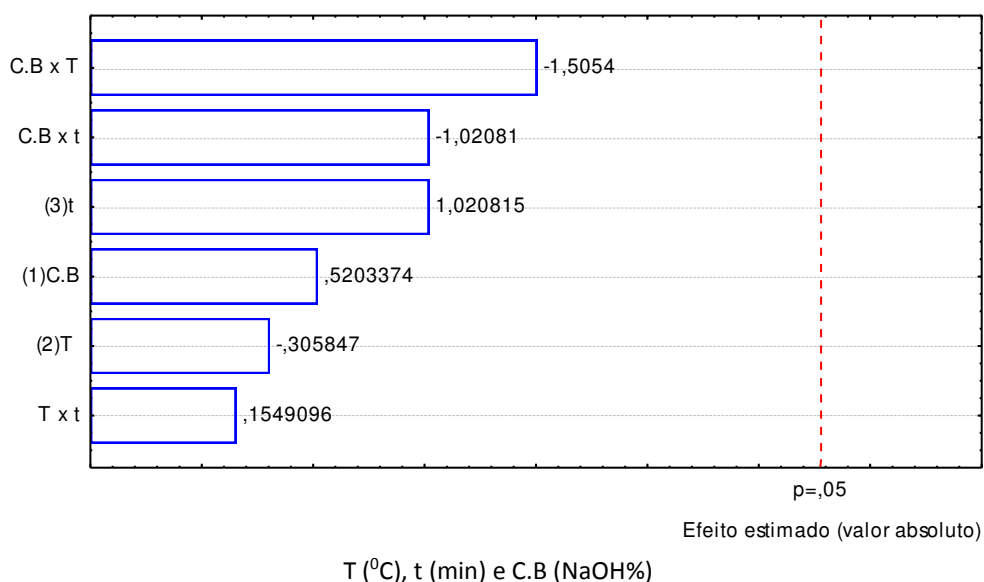
### Análise quanto à concentração de glicose (básico)

Os valores codificados e reais presentes na Tabela 6.14, para as variáveis de estudo e da resposta percentual de glicose variou de 1,14 a 3,82 g L<sup>-1</sup> nos experimentos (1,2, e 3), e de 1,54 a 5,22 g L<sup>-1</sup> nos experimentos (5,6,7, e 8) e de 4,46 a 5,73 g L<sup>-1</sup> nos

pontos centrais para glicose. O experimento 4 apresenta solubilização da hemicelulose em valor de  $23,53 \text{ g.L}^{-1}$  nas condições para tratamento com hidróxido de sódio a 4,0%, temperatura de  $140 \text{ }^\circ\text{C}$  e tempo em 60 min, mostrando significativa resposta do processo e se excetuando o experimento para glicose.

O diagrama de Pareto é apresentado na Figura 6.13. Para o pré-tratamento básico utilizando, com as variáveis independentes T ( $^\circ\text{C}$ ), C.B (%) e t (min), bem como a interação entre essas variáveis que influenciam aumentando a concentração de glicose. Os dados foram analisados em nível estatístico de 95% de confiança.

**Figura 6.13.** Diagrama de Pareto para pré-tratado básico em bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 (glicose).



É possível observar as interações das variáveis de entrada na Figura 6.13, temperatura, tempo e concentração de hidróxido de sódio.

A Tabela 6.15, apresenta a análise de variância (ANOVA) para concentração de glicose no licor pré-tratado ácido do bagaço de sorgo sacarino da variedade IPA EP17.

**Tabela 6.15.** Análise de variância (ANOVA) para pré-tratamento ácido seguido de básico

Fonte de variação	GL	SQ	MQ	Teste F
<b>Regressão</b>	3	15,0175	5,0058	0,57
<b>Resíduo</b>	7	12,67659	1,819	
<b>Total</b>	10	27,69409		
<b>% R<sup>2</sup></b>		54,22		
		<b>F<sub>tabelado</sub> = 4,75</b>	<b>F<sub>calculado</sub> = 2,75</b>	

GL - Grau de liberdade; SQ - Soma dos quadrados; QM - Quadrado médio dos desvios; Teste F - (Fcalculado / Ftabelado).

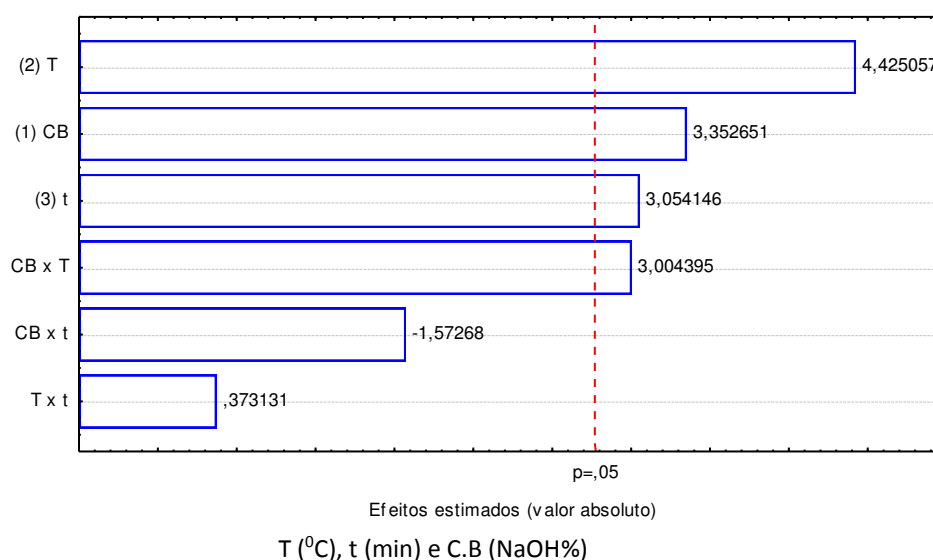
Na Tabela 6.15, pode ser observada a análise de variância para o percentual de glicose considerando-se apenas os parâmetros que foram significativos. Este modelo apresenta 54,22% da variação obtida, que pode ser explicada pelo modelo e pela razão  $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$  igual a 0,58, indicando que o mesmo não se apresenta estatisticamente significativo com 95% de confiança (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

### Análise quanto a concentração de Xilose (básico)

Os valores codificados e reais na Tabela 6.14, para as variáveis de estudo e da resposta percentual de xilose variou de 14,9 a 15,69 g L<sup>-1</sup> nos experimentos 1,2, e 3 respectivamente, e de 17,8 a 23,75 g L<sup>-1</sup> nos experimentos 5 a 8 e de 17,76 a 19,55 g L<sup>-1</sup> nos pontos centrais. O experimento 4 apresentou solubilização da hemicelulose gerando xilose em valor de 23,53 g L<sup>-1</sup> nas condições para tratamento com hidróxido de sódio a 4,0%, temperatura de 140 °C e tempo em 60 min, mostrando significativa resposta do processo quando comparada ao ensaio 8 na produção de xilose com relação a um tempo menor e se excetuando o experimento para glicose.

O diagrama de Pareto é apresentado na Figura 6.14, para o pré-tratamento básico utilizando o planejamento 2<sup>3</sup> + 3 pontos centrais, com as variáveis T (°C), C.B (%) e t (min), bem como a interação entre essas variáveis influenciam aumentando a concentração de xilose. Os dados foram analisados em nível estatístico de 95% de confiança.

**Figura 6.14.** Diagrama de Pareto para pré-tratado básico em bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 (xilose).



É observado na Figura 6.14 que a variável de entrada temperatura, foi a mais significativa em suas interações, em seguida a concentração de hidróxido de sódio e o tempo junto as interações concentração de base com temperatura.

A Tabela 6.16, apresenta os dados estatísticos referentes a análise de variância (ANOVA) para pré-tratamento básico na solubilização da lignina e da xilose.

**Tabela 6.16.** Análise de variância (ANOVA) para pré-tratamento básico na solubilização da lignina e da xilose

Fonte de variação	GL	SQ	MQ	Teste F
<b>Regressão</b>	6	72,89234	12,14872	1,19
<b>Resíduo</b>	4	6,54508	1,63627	
<b>Total</b>	10	91,28445		
<b>% R<sup>2</sup></b>		92,83		
		<b>F<sub>tabelado</sub> = 8,89</b>	<b>F<sub>calculado</sub> = 7,42</b>	

GL - grau de liberdade; SQ - Soma dos quadrados; QM - Quadrado médio dos desvios; Teste F - (F<sub>calculado</sub> / F<sub>tabelado</sub>).

Pode ser observado na Tabela 6.16, a análise de variância para o percentual de xilose considerando-se apenas os parâmetros que foram significativos. Este modelo apresenta 92,83% da variação obtida, que pode ser explicada pelo modelo e pela razão F<sub>calculado</sub>/F<sub>tabelado</sub> igual a 1,19, indicando que o mesmo se apresenta estatisticamente significativo com 95% de confiança (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

Como o modelo empírico de regressão dos dados experimentais da resposta percentual de xilose é estatisticamente significativo, pode-se construir a superfície de resposta para a análise das influências das variáveis em estudo sobre a resposta.

O modelo estatístico codificado com as variáveis significativa é apresentado na Equação 11:

$$\text{Xilose (g L}^{-1}\text{)} = 13,054 - 3,0016.T - 0,038.CB - 0,015.90.T + 0,028.90.CB + 4,662 \quad (11)$$

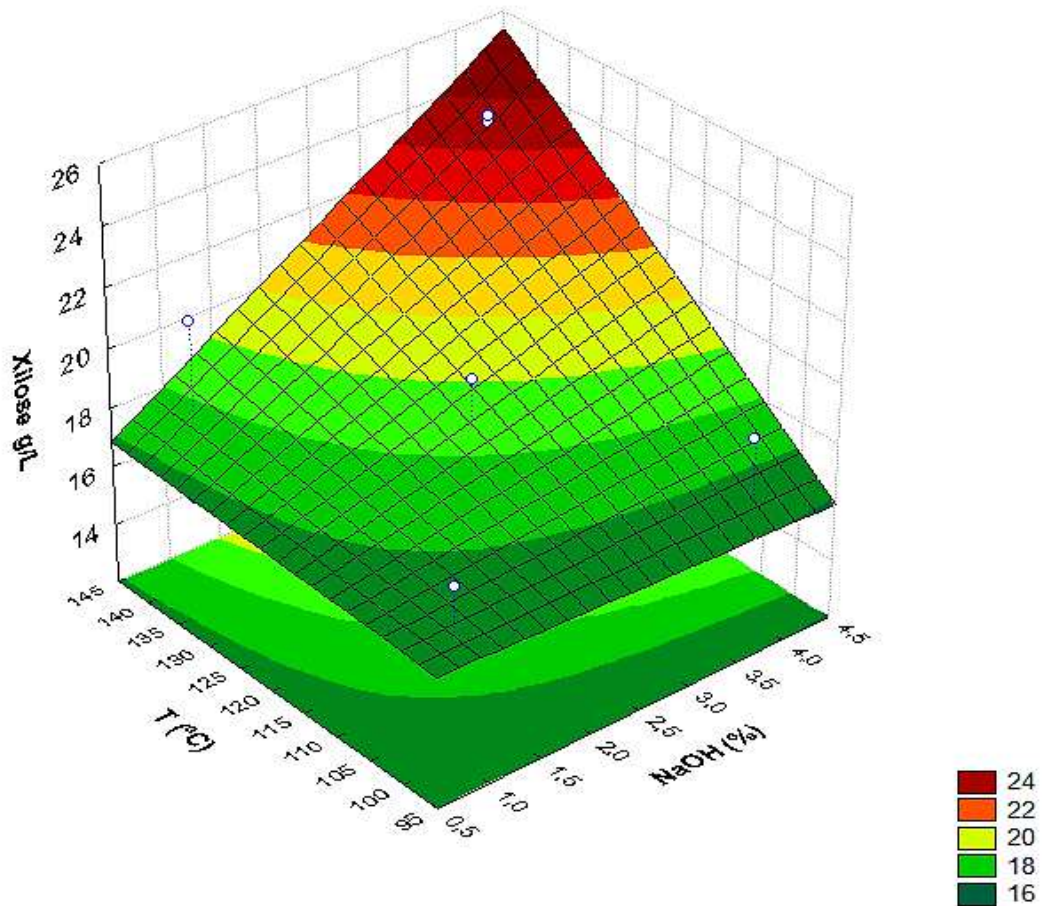
Em que:

CB - Concentração de básico (NaOH);

T - Temperatura (°C).

A superfície de resposta apresentada na Figura 6.15, foi gerada em relação aos efeitos das variáveis de entrada do planejamento experimental para etapa de pré-tratamento básico do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17.

**Figura 6.15.** Superfície de resposta para porcentagem de xilose em pré-tratamento básico no bagaço de sorgo sacarino IPA EP17.



A superfície de resposta apresentada na Figura 6.15, foi gerada em relação aos efeitos das variáveis de entrada temperatura e concentração de NaOH, influenciando o aumento no rendimento de xilose e solubilização da lignina na etapa do pré-tratamento básico.

## 6.8. Pré-tratamento do bagaço de sorgo sacarino BRS506 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Os resultados das concentrações de glicose e xilose obtidos nos licores do bagaço da variedade BRS506 após o pré-tratamento ácido são apresentados na Tabela 6.17. Foi utilizando como ferramenta para análise estatística desse processo um planejamento fatorial 2<sup>3</sup>+3 pontos centrais.

**Tabela 6.17.** Dados obtidos para o bagaço pré-tratado com ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) para variedade BRS506

Ensaio	Concentração de ácido (%)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Resultados	
				Glicose (g L <sup>-1</sup> )	Xilose (g L <sup>-1</sup> )
01	1,0	80	60	0	15,2047
02	3,0	80	60	0	20,2557
03	1,0	120	60	0,3104	20,2845
04	3,0	120	60	0,0280	18,6570
05	1,0	80	120	0	17,2955
06	3,0	80	120	0	18,1780
07	1,0	120	120	0,7535	16,9147
08	3,0	120	120	0	17,7739
09	2,0	100	90	0,4177	22,5767
10	2,0	100	90	0	23,4773
11	2,0	100	90	0	23,5243

### Análise quanto a concentração de glicose (ácido)

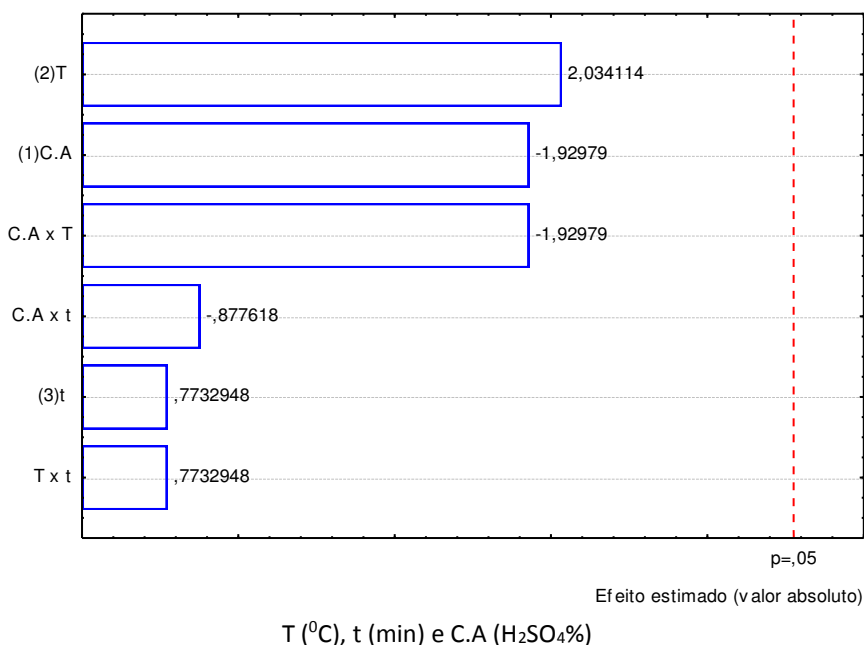
Verificam-se os valores codificados e reais na Tabela 6.17, para as variáveis de estudo e da resposta percentual de glicose que variou de 0 a 0,75 g L<sup>-1</sup> nos experimentos (1,2,3,4,5,6,7e 8), e de 0 a 0,41 g L<sup>-1</sup> nos pontos centrais para glicose.

Os pontos centrais, apresentam condições de tratamento em concentração de ácido de 2,0%, temperatura de 100 °C e tempo em 90 min, havendo uma repetibilidade significativa do processo e se excetuando o experimento 10 para glicose.

O Diagrama de Pareto, Figura 6.16, apresenta os dados estatísticos significativos a 95% para o pré-tratamento ácido utilizando o planejamento 2<sup>3</sup> + 3 pontos centrais, com as

variáveis independentes temperatura, concentração e tempo, bem como a interação entre essas variáveis que influenciam na concentração de glicose. Os dados foram analisados em nível estatístico a 95% de confiança.

**Figura 6.16.** Diagrama de Pareto para pré-tratado ácido em bagaço de sorgo sacarino BRS506 (glicose)



É observado na Figura 6.16, as interações das variáveis temperatura, tempo e concentração de ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) utilizados nos ensaios para pré-tratamento ácido no bagaço de sorgo sacarino BRS506.

Na Tabela 6.18, estão descritos os dados estatísticos referentes a ANOVA para pré-tratamento ácido na solubilização da hemicelulose junto a glicose do bagaço de sorgo sacarino BRS506.

**Tabela 6.18.** Análise de variância (ANOVA) para pré-tratamento ácido na solubilização da hemicelulose.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Teste F
<b>Regressão</b>	3	0,488122	0,16270733	0,63
<b>Resíduo</b>	7	0,144074	0,020582	
<b>Total</b>	10	0,632196		
<b>% R<sup>2</sup></b>		77,21		
		<b>F<sub>tabelado</sub> = 4,95</b>	<b>F<sub>calculado</sub> = 7,90</b>	

GL - Grau de liberdade; SQ - Soma dos quadrados; QM - Quadrado médio dos desvios; Teste F - (F<sub>calculado</sub> / F<sub>tabelado</sub>).

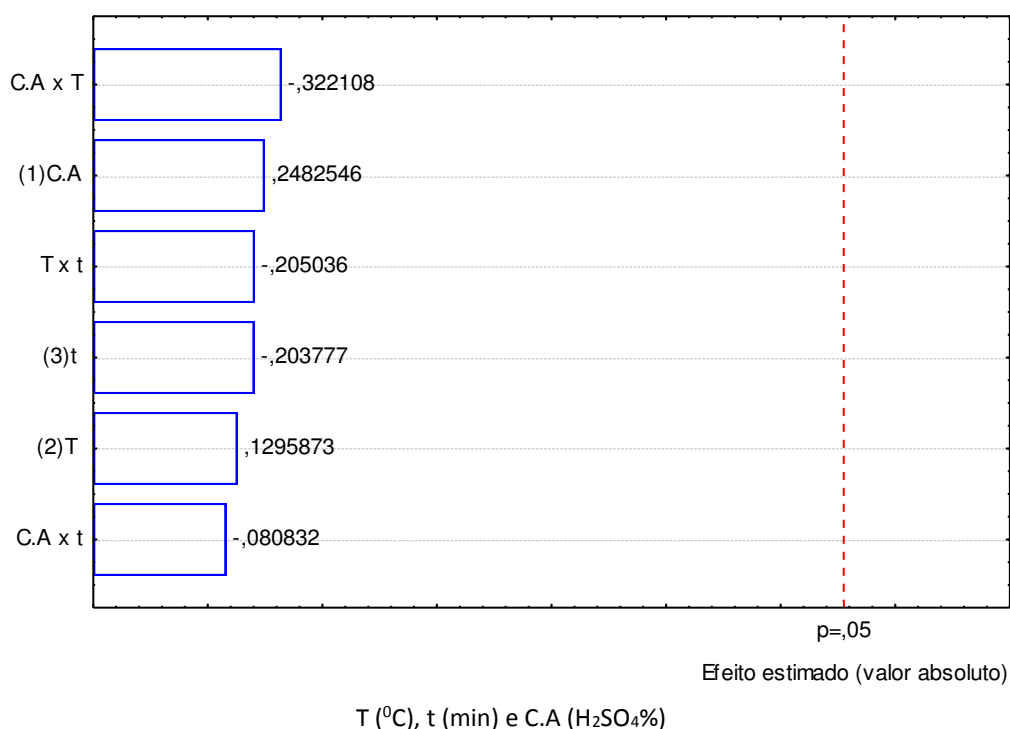
Encontra-se na Tabela 6.18, a análise de variância para o percentual de glicose considerando-se apenas os parâmetros que foram significativos. Este modelo apresenta 77,21% da variação obtida, que pode ser explicada pelo modelo e pela razão  $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$  igual a 0,62, indicando que o mesmo não se apresenta estatisticamente significativo com 95% de confiança (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

### Análise quanto a concentração de Xilose (ácido)

Os resultados mais significativos foram obtidos com o pré-tratamento ácido na solubilização da hemicelulose nos ensaios 9, 10 e 11 da matriz do planejamento podendo ser observado na Tabela 6.17, pois obtiveram valores em 22,57, 23,47 e 23,52 g L<sup>-1</sup> de xilose respectivamente, e apresentaram pequenas variações para as respostas indicando repetibilidade significativa do processo e se excetuando o experimento 10 para xilose.

O diagrama de Pareto apresentado na Figura 6.17 para o pré-tratamento ácido utilizando o planejamento para análise estatística, com as variáveis independentes T (°C), C.A (%) e t (min), bem como a interação entre essas variáveis influenciam aumentando a concentração de xilose. Os dados foram analisados em nível estatístico de 95% de confiança.

**Figura 6.17.** Diagrama de Pareto do pré-tratamento ácido no bagaço da variedade de sorgo sacarino BRS 506 (xilose)





É observado na Figura 6.17, as interações das variáveis temperatura, tempo e concentração de ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), utilizados nos ensaios para pré-tratamento ácido no bagaço de sorgo sacarino BRS506.

A Tabela 6.19 apresenta os dados estatísticos referentes a análise de variância (ANOVA) para pré-tratamento ácido na solubilização da hemicelulose.

**Tabela 6.19.** Análise de variância (ANOVA) para pré-tratamento ácido na solubilização da hemicelulose

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Teste F
<b>Regressão</b>	6	2,45555	3,6833	0,14
<b>Resíduo</b>	4	216,446	54,1115	
<b>Total</b>	10	231,1793		
<b>% R<sup>2</sup></b>		63,73		
		<b>F<sub>tabelado</sub> = 2,022</b>	<b>F<sub>calculado</sub> = 14,69</b>	

GL - Grau de liberdade; SQ - Soma dos quadrados; QM - Quadrado médio dos desvios; Teste F - (F<sub>calculado</sub> / F<sub>tabelado</sub>).

Estão descritos na Tabela 6.19, a análise de variância para o percentual de xilose considerando-se apenas os parâmetros que foram significativos. Este modelo apresenta 63,73% da variação obtida, que pode ser explicada pelo modelo e pela razão F<sub>calculado</sub>/F<sub>tabelado</sub> igual a 0,13, indicando que o mesmo não se apresenta estatisticamente significativo com 95% de confiança (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

## 6.9. Pré-tratamento do bagaço de sorgo sacarino BRS 506 com NaOH

Estão apresentados na Tabela 6.20, os resultados das concentrações de glicose e xilose obtidos nos licores do bagaço da variedade BRS506 após o pré-tratamento ácido seguido de básico.

**Tabela 6.20.** Matriz de planejamento fatorial completo, para pré-tratado ácido seguido de básico (NaOH) para variedade BRS506

Ensaio	Concentração de base (%)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Respostas	
				Glicose (g L <sup>-1</sup> )	Xilose (g L <sup>-1</sup> )
1	1,0	100	60	1,2	18,0991
02	4,0	100	60	1,0255	15,9922
03	1,0	140	60	2,1917	22,0986
04	4,0	140	60	2,8322	23,7590
05	1,0	100	120	1,4389	16,3917
06	4,0	100	120	3,3431	19,7944
07	1,0	140	120	2,7034	21,8452
08	4,0	140	120	3,6090	21,6930
09	2,5	120	90	2,6566	17,2611
10	2,5	120	90	1,2396	17,0573
11	2,5	120	90	2,9352	16,9556

### Análise quanto à concentração de glicose (básico)

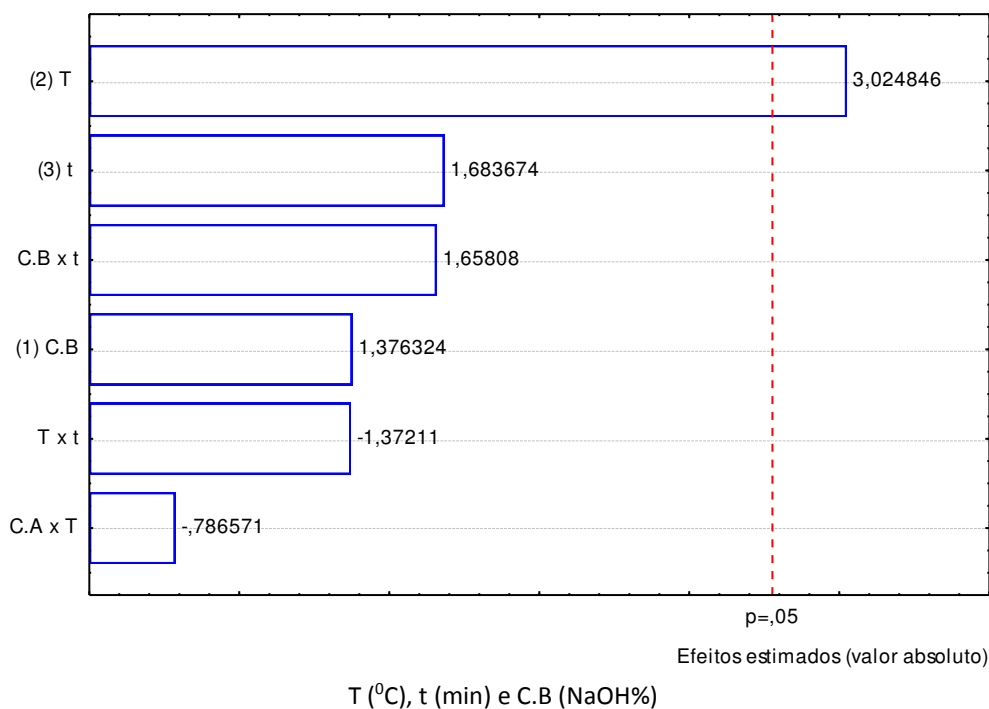
Verificam-se os valores codificados e reais na Tabela 6.20, para as variáveis de entrada e da resposta percentual de glicose que variou entre 1 a 1,2 g L<sup>-1</sup> nos experimentos (1 e 2), e de 1,4 a 3,6 g L<sup>-1</sup> nos ensaios (4,5,6,7 e 8), os pontos centrais, apresentam valores que variaram entre 16,9 a 17,26 g L<sup>-1</sup>.

O experimento 3 apresentou condições de tratamento em concentração de NaOH de 1,0%, temperatura de 140 °C e tempo em 60 min, apresentando um valor de 2,19 g L<sup>-1</sup> de glicose.

O diagrama de Pareto, Figura 6.18, apresenta os dados estatísticos significativos a 95% para o pré-tratamento ácido utilizando o planejamento 2<sup>3</sup>+3 pontos centrais, com as

variáveis independentes temperatura, concentração e tempo, bem como a interação entre essas variáveis que influenciam na concentração de glicose. Os dados foram analisados em nível estatístico a 95% de confiança.

**Figura 6.18.** Diagrama de Pareto para pré-tratado básico em bagaço de sorgo sacarino BRS506 (glicose).



A Figura 6.18, apresenta as variáveis de entrada temperatura, tempo e concentração de NaOH e suas interações mais significativas, chegando a 95% de confiabilidade.

Estão descritos na Tabela 6.21, os dados estatísticos referentes a análise de variância (ANOVA) para pré-tratamento básico na solubilização da lignina.

**Tabela 6.21.** ANOVA para pré-tratamento básico na solubilização da lignina e da glicose

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Teste F
<b>Regressão</b>	6	8,201136	1,366856	1,38
<b>Resíduo</b>	4	1,71488	0,42872	
<b>Total</b>	10	9,916017		
<b>% R<sup>2</sup></b>		82,70		
		<b>F<sub>tabelado</sub> = 4,4</b>	<b>F<sub>calculado</sub> = 3,18</b>	

GL - Grau de liberdade; SQ - Soma dos quadrados; QM - Quadrado médio dos desvios; Teste F - (F<sub>calculado</sub> / F<sub>tabelado</sub>).

Encontra-se na Tabela 6.21, a análise de variância para o percentual de glicose considerando-se apenas os parâmetros que foram significativos. Este modelo apresenta 82,70% da variação obtida, que pode ser explicada pelo modelo e pela razão  $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$  igual a 1,38, indicando que o mesmo se apresenta estatisticamente significativo com 95% de confiança (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

Como o modelo empírico de regressão dos dados experimentais da resposta percentual para glicose é estatisticamente significativo, foi construído a superfície de resposta para a análise das influências das variáveis em estudo sobre a resposta.

O modelo estatístico codificado com as variáveis significativa é apresentado na Equação 12:

$$\text{GLICOSE (g L}^{-1}\text{)} = 9,166 + 0,173.T + 0,978.CB - 0,085T - 0,00005.CB + 4,967 \quad (12)$$

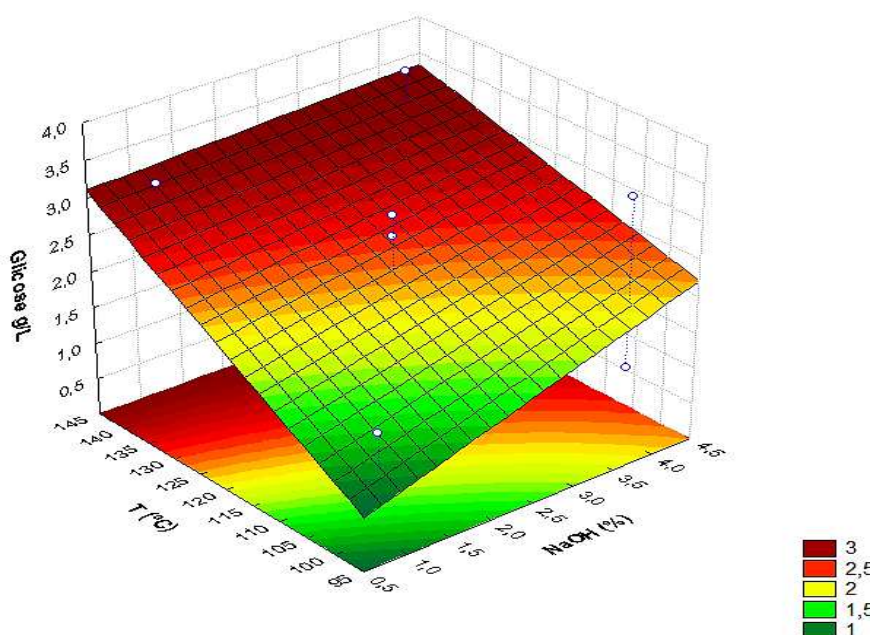
Em que:

CB - Concentração de base (NaOH);

T - Temperatura (°C).

A superfície de resposta apresentada na Figura 6.19, foi gerada em relação aos efeitos das variáveis de entrada temperatura, tempo e concentração de NaOH presentes no planejamento experimental, Tabela 6.20, para etapa de pré-tratamento ácido seguido de básico do bagaço de sorgo sacarino BRS506.

**Figura 6.19.** Superfície de resposta para porcentagem de glicose em pré-tratamento básico no bagaço de sorgo sacarino BRS506

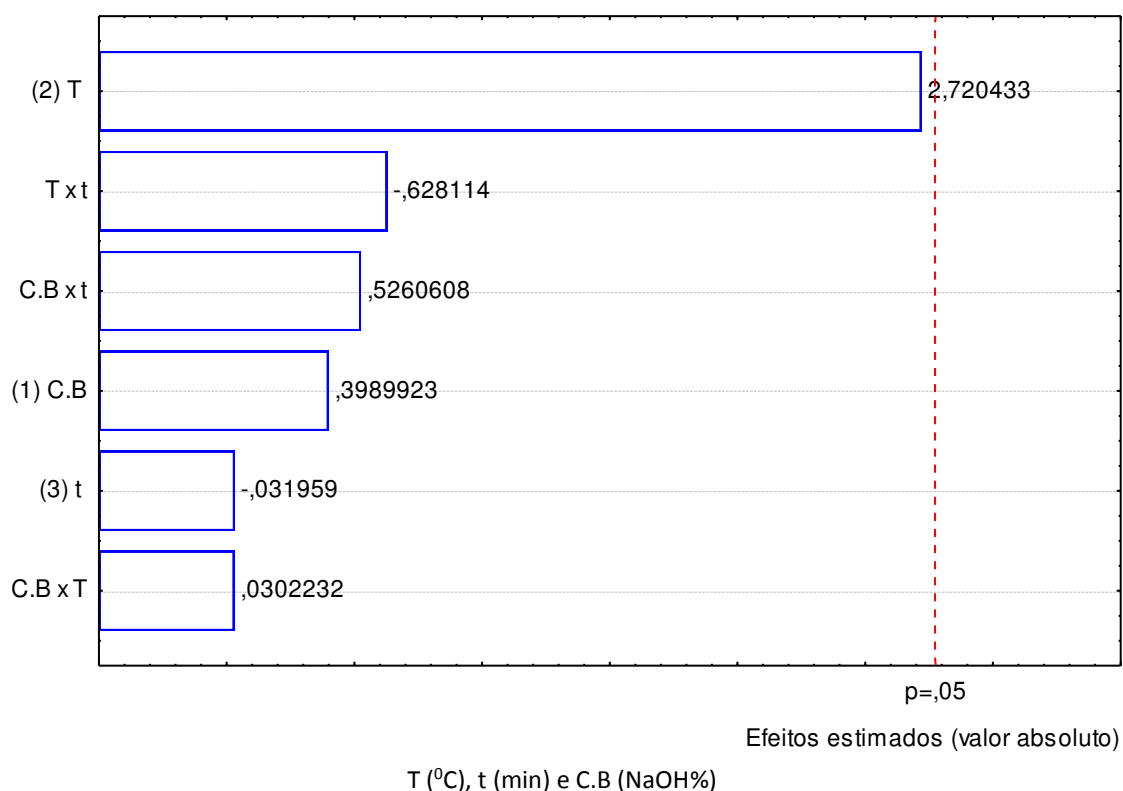


### Análise quanto a concentração de Xilose (básico)

Os resultados mais significativos foram obtidos com o pré-tratamento básico para produção de xilose nos ensaios 3 e 4 da matriz do planejamento podendo ser observado na Tabela 6.20, pois obtiveram valores 22,09 e 23,75 g L<sup>-1</sup> de xilose respectivamente e apresentaram pequenas variações para as respostas indicando repetibilidade significativa do processo e se excetuando o experimento 10 para xilose.

O diagrama de Pareto é apresentado na Figura 6.20, para o pré-tratamento básico utilizando o planejamento 2<sup>3</sup>+3 pontos centrais, com as variáveis independentes T (°C), C.B (%) e t (min), bem como a interação entre essas variáveis influenciam aumentando a concentração de xilose. Os dados foram analisados em nível estatístico de 95% de confiança.

**Figura 6.20.** Diagrama de Pareto do pré-tratamento básico para concentração de xilose na variedade de sorgo sacarino BRS506 (xilose).



É observado na Figura 6.20, a interação das variáveis de entrada temperatura, tempo e concentração de hidróxido.

Encontra-se na Tabela 6.22, os dados estatísticos referentes a análise de variância (ANOVA) para pré-tratamento básico na solubilização da lignina.

**Tabela 6.22.** ANOVA para pré-tratamento básico na solubilização da lignina e da xilose

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Teste F
Regressão	6	50,82802	8,4713	0,34
Resíduo	4	24,69431	6,173	
Total	10	75,52233		
% R <sup>2</sup>		67,3		
		<b>F<sub>tabelado</sub> = 3,93</b>	<b>F<sub>calculado</sub> = 1,37</b>	

GL - Grau de liberdade; SQ - Soma dos quadrados; QM - Quadrado médio dos desvios; Teste F - (F<sub>calculado</sub> / F<sub>tabelado</sub>).

A Tabela 6.22 apresenta a análise de variância para o percentual de xilose considerando-se apenas os parâmetros que foram significativos. Este modelo apresenta 67,3% da variação obtida, que pode ser explicada pelo modelo e pela razão F<sub>calculado</sub>/F<sub>tabelado</sub> igual a 0,34, indicando que o mesmo não se apresenta estatisticamente significativo com 95% de confiança (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

## 6.10. Hidrólise enzimática

A hidrólise enzimática foi avaliada a partir da produção de glicose proveniente da celulose do bagaço de sorgo sacarino pré-tratado das variedades IPA EP17 e BRS 506 durante um período de 72 horas. O processo foi realizado para cargas enzimáticas de 10, 17,5 e 25 FPU/g e uma razão entre a massa de bagaço e solução de extrato enzimático de 2; 3 e 4% (massa volume) de acordo com uma matriz de planejamento 2<sup>2</sup>+3 pontos centrais.

### 6.10.1. Perfis cinéticos para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo IPA EP17

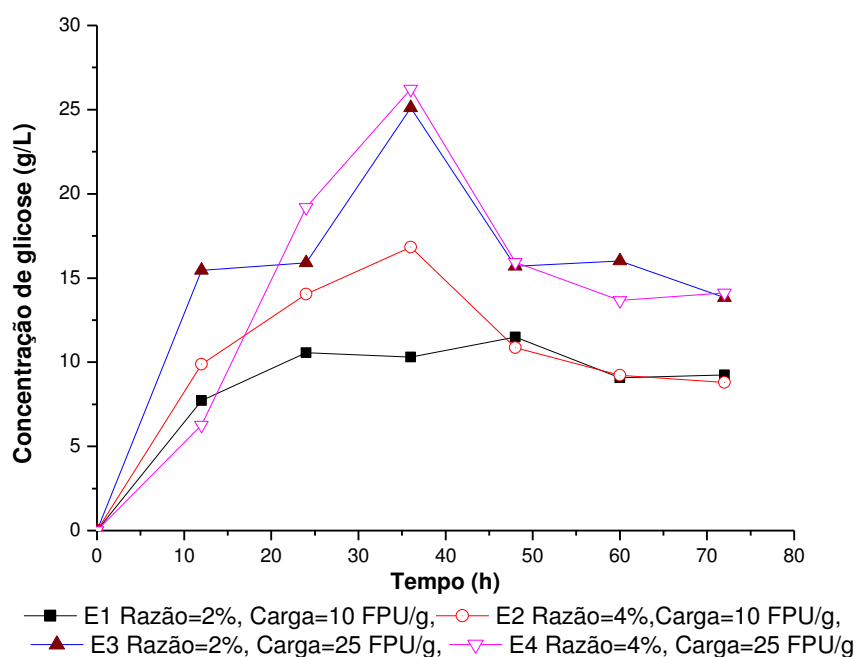
A massa de glicose foi determinada a partir da quantidade de celulose presente no bagaço sorgo pré-tratado (60,42%) sabendo que estequiometricamente para 1g de celulose seca pode-se obter teoricamente 1,11 g de glicose. A quantidade teórica máxima que se pode obter de glicose nas condições de razão massa de bagaço de sorgo/volume de extrato, podem ser observados na Tabela 6.23. Durante o processo de hidrólise enzimática a obtenção máxima experimental desse valor dependerá da carga enzimática, podendo hidrolisar toda a massa contida no volume do extrato, nas condições de temperatura em 50 °C e pH 4,8, condições em que foram realizados a hidrólise.

**Tabela 6.23.** Concentração teórica de glicose para cada condição trabalhada.

Ensaio	Condições dos experimentos		Concentração
	Razão Sorgo/extrato (g L <sup>-1</sup> )	Carga Enzimática (FPU.g <sup>-1</sup> )	Glicose teórica (g L <sup>-1</sup> )
E1	2	10	13,2924
E2	4	10	13,2924
E3	2	25	26,5848
E4	4	25	26,5848
E5	3	17,5	19,9386
E6	3	17,5	19,9386
E7	3	17,5	19,9386

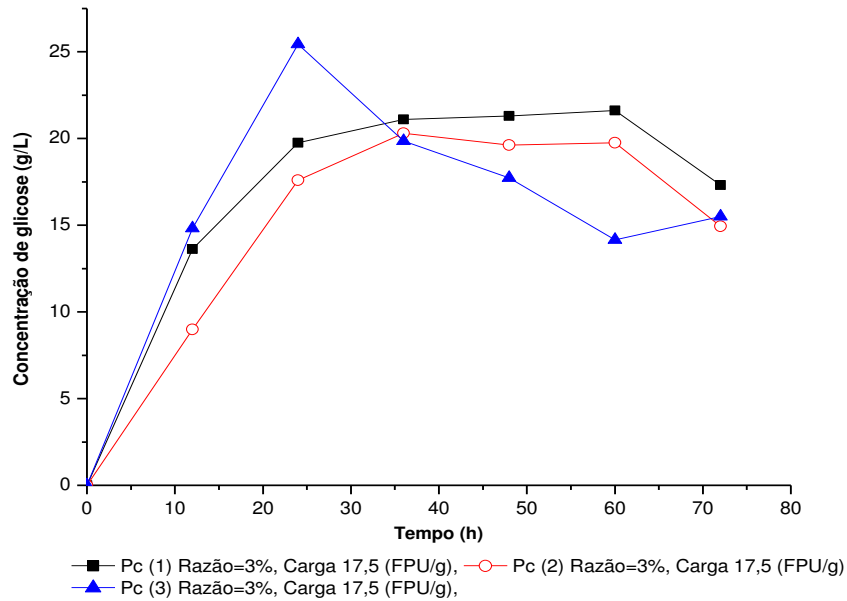
A Figura 6.21, mostra os perfis cinéticos da concentração de glicose e a ocorrência no aumento da concentração ao longo do tempo de hidrólise, atingindo maiores concentrações entre 24 e 48 h de hidrólise nos ensaios 1,2,3 e 4.

**Figura 6.21.** Perfis cinéticos das concentrações de glicose, obtidos na hidrólise enzimática de bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado.



A Figura 6.22, mostra os perfis cinéticos da concentração de glicose e a ocorrência no aumento da concentração ao longo do tempo de hidrólise, atingindo maiores concentrações entre 24 e 48 h de hidrólise nos pontos centrais ensaios 5,6 e 7.

**Figura 6.22.** Perfis cinéticos das concentrações de glicose, obtidos na hidrólise enzimática de bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado, para os pontos centrais



Encontra-se na Tabela 6.24, a quantificação de glicose ( $\text{g L}^{-1}$ ) em seus respectivos ensaios da matriz do planejamento  $2^2+3$  pontos centrais.



**Tabela 6.24.** Quantificação da glicose ( $\text{g L}^{-1}$ ) da cinética da hidrólise enzimática para variedade IPA EP17

t (h)	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7
12	7,71481	9,873929	15,46471	6,261934	13,6222	8,991432	14,81355
24	10,55936	14,03672	15,90942	19,18727	19,75031	17,59066	25,44594
36	10,30477	16,84054	25,10730	<b>26,22929</b>	21,10486	20,29894	19,86255
48	11,48959	10,85312	15,68911	15,93146	21,30885	19,61975	17,7348
60	9,079559	9,231334	16,0155	13,66299	21,61077	19,75031	14,16238
72	9,238678	8,790698	13,83476	14,11016	17,31049	14,93594	15,50714

\*As letras seguidas de números E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7 representam os ensaios da matriz do planejamento.

Pode ser observado na Tabela 6.24, que nas condições das variáveis estudadas no presente trabalho, indica o tempo para produção de glicose a partir do licor hidrolisado não ultrapassou o tempo de 36 h, apontando o ensaio 4 da matriz do planejamento como o ensaio de maior produção de glicose ( $\text{g L}^{-1}$ ), nas condições de carga enzimática e razão (relação massa seca de bagaço) por volume de meio reacional ( $25 \text{ FPU} \cdot \text{g}^{-1}$  e 4%).

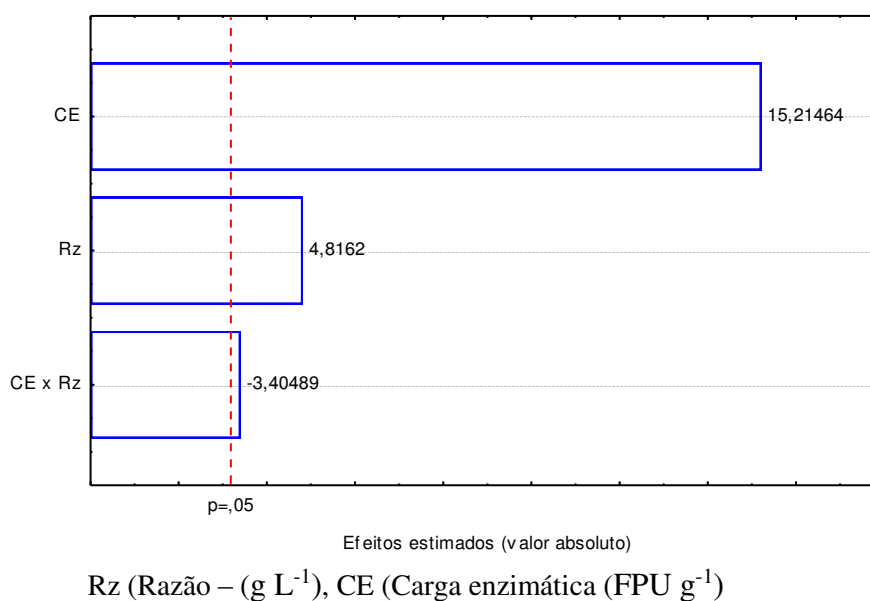
Observa-se na Tabela 6.25, os resultados da matriz do planejamento  $2^{2+3}$  pontos centrais da hidrólise para concentração da glicose a partir do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 em 36 h, quanto a avaliação sobre a produção e os efeitos da carga enzimática ( $\text{FPU g}^{-1}$ ) e da relação massa bagaço do sorgo/extrato enzimático ( $\text{g L}^{-1}$ ).

**Tabela 6.25.** Matriz do planejamento para melhor condição da hidrólise da concentração da glicose carga enzimática (FPU g<sup>-1</sup>) e da relação massa bagaço do sorgo/extrato enzimático (g L<sup>-1</sup>)

Ensaio	Variáveis Independentes		Resposta
	Razão (Rz)	Carga Enzimática (CE)	Glicose
	Sorgo/extrato (g L <sup>-1</sup> )	(FPU g <sup>-1</sup> )	Produzida(g L <sup>-1</sup> ) 36 h
1	2	10	10,30477
2	4	10	16,84054
3	2	25	25,10730
4	4	25	<b>26,22929</b>
5	3	17,5	21,10486
6	3	17,5	20,29894
7	3	17,5	19,86255

O diagrama de Pareto é apresentado na Figura 6.23. Pode-se afirmar que para a hidrólise enzimática a carga enzimática (FPU.g<sup>-1</sup>), relação bagaço do sorgo/extrato enzimático (g L<sup>-1</sup>), influenciam o processo aumentando a concentração de glicose. Os dados foram analisados em nível estatístico de 95% de confiança.

**Figura 6.23.** Diagrama de Pareto para hidrólise enzimática para bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 em 36 h



É observado na Figura 6.23, a variável de entrada concentração de enzima foi a mais significativa em suas interações e a segunda variável foi a razão (massa do bagaço de sorgo g L<sup>-1</sup>) chegando a 95% de confiabilidade.

Encontra-se na Tabela 6.26, os dados estatísticos referentes a ANOVA para Hidrólise Enzimática do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 pré-tratado em 36 h.

**Tabela 6.26.** Análise de variância para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo sacarino pré-tratado em 36 h.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Teste F
<b>Regressão</b>	6	155,5279	25,9213167	3,09
<b>Resíduo</b>	3	1,8961	0,6320	
<b>Total</b>	10	170.1882		
<b>% R<sup>2</sup></b>		98,5		
		<b>F<sub>tabelado</sub> = 9,28</b>	<b>F<sub>calculado</sub> = 3,00</b>	

GL - Grau de liberdade; SQ - Soma dos quadrados; QM - Quadrado médio dos desvios; Teste F - (Fcalculado / Ftabelado).

Encontra-se na Tabela 6.26, a análise de variância para o percentual de glicose produzida pela hidrólise enzimática, considerando-se apenas os parâmetros que foram significativos. Este modelo apresenta a variação obtida, que pode ser explicada pelo modelo e pela razão Fcalculado/Ftabelado igual a 3,09 indicando que o mesmo se apresenta estatisticamente significativo com 95% de confiança (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

O modelo estatístico codificado com as variáveis significativa é apresentado na Equação 13:

$$\text{Conc. g (g L}^{-1}\text{)} = 9,364 + 5,074 \cdot \text{Rz} + 1,347 \cdot \text{CE} - 0,1845 \cdot \text{Rz} \cdot \text{CE}$$

Em que:

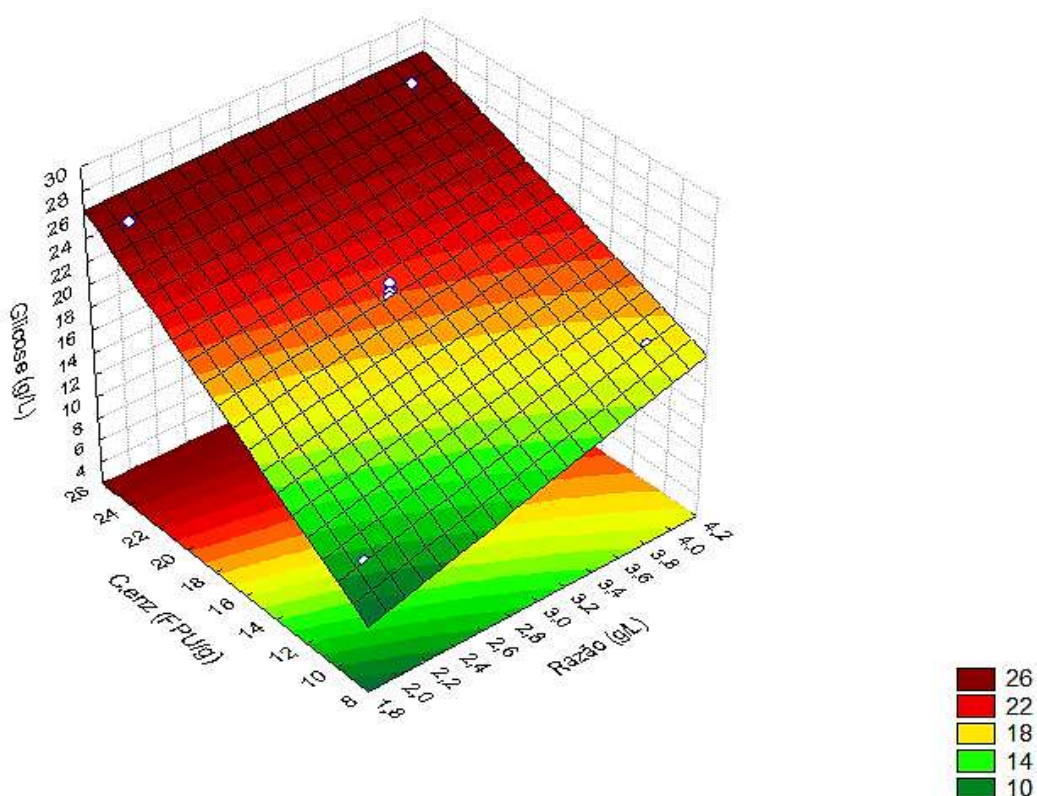
Conc. g (g L<sup>-1</sup>) - Concentração de glicose;

Rz - Razão (massa de bagaço de sorgo);

CE - Carga enzimática.

A superfície de resposta, Figura 6.24, em função das variáveis para hidrólise do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 no período de 36 h pode-se analisar a produção de glicose.

**Figura 6.24.** Superfície de resposta para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo sacarino IPA EP17 em 36 h



Pode ser observado a superfície de resposta para a variável concentração de glicose, Figura 6.24, obtido da hidrólise enzimática do sorgo sacarino da variedade IPA EP17. Observa-se que nos intervalos a maior concentração de glicose do bagaço de sorgo, ocorrem para níveis mais altos, carga enzimática, razão (massa seca bagaço de sorgo/extrato enzimático) e menores valores para interação da carga enzimática e razão.

### 6.10.2. Perfis cinéticos para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo BRS 506

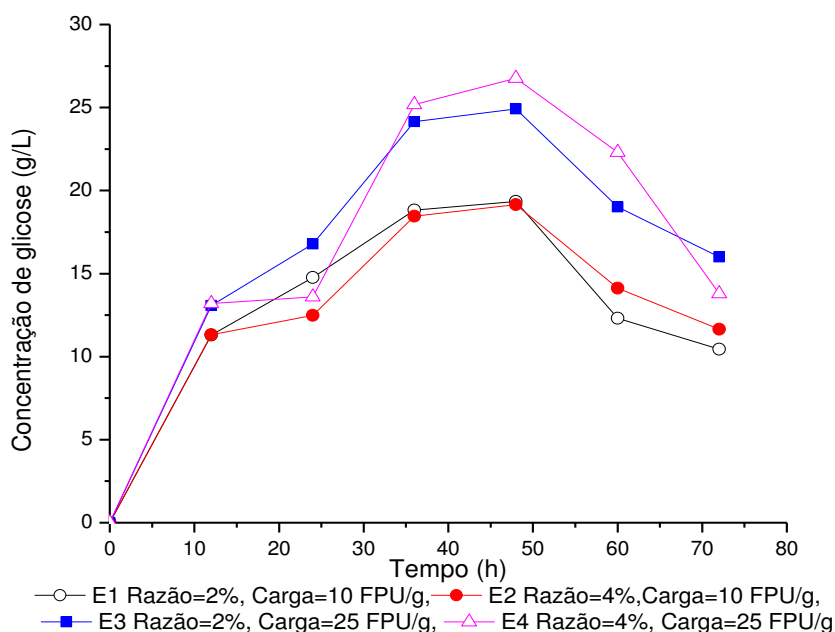
Podem ser observados na Tabela 6.27, a matriz de planejamento  $2^2+3$  pontos centrais com as variáveis de entrada razão e carga enzimática. Durante o processo de hidrólise enzimática a obtenção máxima experimental desse valor dependerá da carga enzimática, podendo hidrolisar toda a massa contida no volume do extrato.

**Tabela 6.27.** Concentração teórica de glicose para cada condição trabalhada

Ensaio	Condições dos experimentos		Concentração
	Razão Sorgo/extrato (g L <sup>-1</sup> )	Carga Enzimática (FPU g <sup>-1</sup> )	Glicose teórica (g L <sup>-1</sup> )
E1	2	10	14,1944
E2	4	10	14,1944
E3	2	25	28,3888
E4	4	25	28,3888
E5	3	17,5	21,2916
E6	3	17,5	21,2916
E7	3	17,5	21,2916

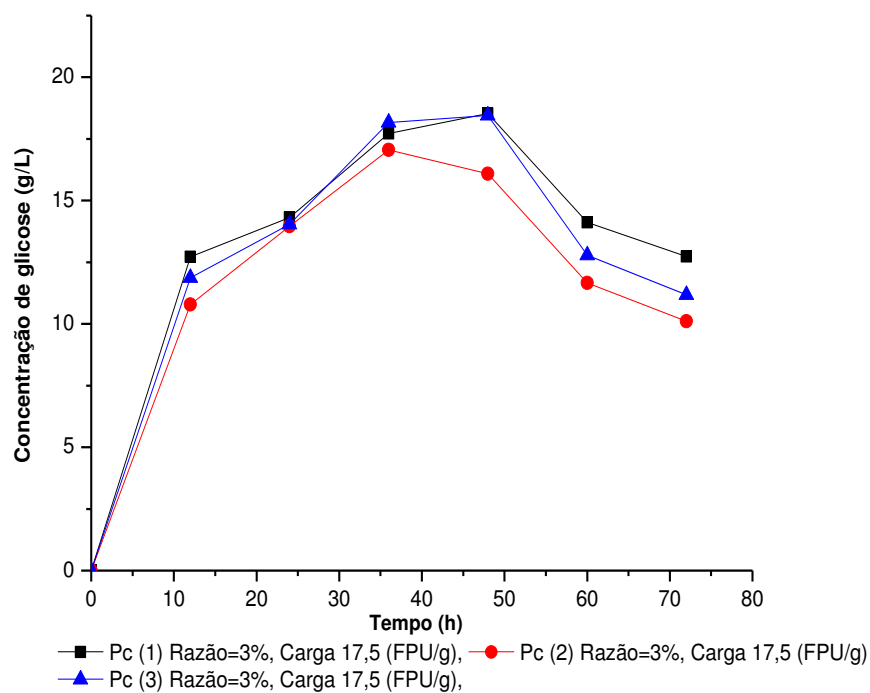
Na Figura 6.25, podem ser observados os perfis cinéticos da concentração de glicose e a ocorrência no aumento da concentração ao longo do tempo de hidrólise, atingindo maiores concentrações entre 24 e 48 h de hidrólise nos ensaios 1,2,3 e 4.

**Figura 6.25.** Perfis cinéticos das concentrações de glicose, obtidos na hidrólise enzimática de bagaço de sorgo sacarino BRS506 pré-tratado, para os ensaios 1. 2. 3 e 4.



Na Figura 6.26, constam os perfis cinéticos da concentração de glicose e a ocorrência no aumento da concentração ao longo do tempo de hidrólise, atingindo maiores concentrações entre 24 e 48 h de hidrólise nos pontos centrais ensaios 5,6 e 7.

**Figura 6.26.** Perfis cinéticos das concentrações de glicose, obtidos na hidrólise enzimática de bagaço de sorgo sacarino BRS506 pré-tratado, para os pontos centrais



Encontra-se na Tabela 6.28, a quantificação de glicose ( $\text{g L}^{-1}$ ) em seus respectivos ensaios da matriz do planejamento  $2^2+3$  pontos centrais.

**Tabela 6.28.** Quantificação da glicose ( $\text{g L}^{-1}$ ) da cinética da hidrólise enzimática para variedade BRS506

<b>t (h)</b>	<b>E1</b>	<b>E2</b>	<b>E3</b>	<b>E4</b>	<b>E5</b>	<b>E6</b>	<b>E7</b>
<b>12</b>	11,29661	11,32109	13,08364	13,19869	12,7246	10,78254	11,87597
<b>24</b>	14,77275	12,4798	16,78825	13,59772	14,31579	13,96491	14,03835
<b>36</b>	15,82823	18,45288	24,15667	<b>25,1685</b>	17,71848	17,05753	18,16728
<b>48</b>	16,54231	19,94647	22,61554	26,76214	18,90632	18,79058	18,888
<b>60</b>	12,31661	14,11995	19,01591	22,29621	14,11995	11,66381	12,78988
<b>72</b>	10,44798	11,65565	16,0049	13,78539	12,73276	10,10526	11,18237

\*As letras seguidas de números E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7 representam os ensaios da matriz do planejamento.

Pode ser observado na Tabela 6.28, que nas condições estudadas no presente trabalho, o tempo para produção de glicose a partir do licor hidrolisado não ultrapassou o tempo de 36 h, apontando o ensaio 4 da matriz do planejamento como o ensaio de maior produção de glicose ( $\text{g L}^{-1}$ ), nas condições de carga enzimática e razão (relação massa seca de bagaço) por volume de meio reacional ( $25 \text{ FPU g}^{-1}$  e 4%).

Pode ser observado na Tabela 6.29, os resultados da matriz do planejamento  $2^2+3$  pontos centrais da hidrólise para concentração da glicose a partir do bagaço de sorgo sacarino BRS506 o ensaio 4 no tempo de 48 horas obteve maior valor para glicose em  $26,76 \text{ g L}^{-1}$ , porem o ensaio 4 no tempo 36 h com concentração de glicose em  $25,16 \text{ g L}^{-1}$  foi o escolhido pela otimização no tempo do processo e o valor de glicose variar em  $1,6 \text{ g L}^{-1}$  apenas, para avaliar sobre a produção e os efeitos da carga enzimática ( $\text{FPU.g}^{-1}$ ) e da relação massa bagaço do sorgo/extrato enzimático ( $\text{g L}^{-1}$ ).

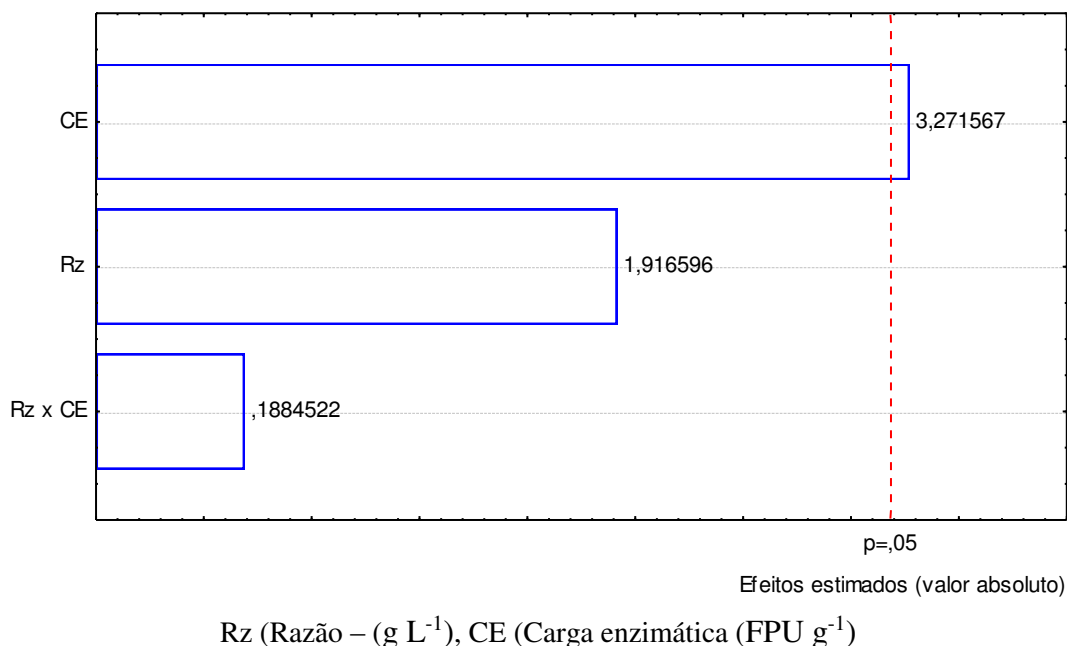
**Tabela 6.29.** Matriz do planejamento para melhor condição da hidrólise da concentração da glicose carga enzimática (FPU g<sup>-1</sup>) e da relação massa bagaço do sorgo/extrato enzimático (g L<sup>-1</sup>).

Ensaio	Variáveis independentes		Resposta
	<b>Razão (Rz)</b>	<b>Carga Enzimática (CE)</b>	<b>Glicose</b>
	<b>Sorgo/extrato (g L<sup>-1</sup>)</b>	<b>(FPU g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Produzida (g L<sup>-1</sup>)</b>
			<b>36 h</b>
<b>1</b>	2	10	15,82823
<b>2</b>	4	10	18,45288
<b>3</b>	2	25	24,15667
<b>4</b>	4	25	<b>25,1685</b>
<b>5</b>	3	17,5	17,71848
<b>6</b>	3	17,5	17,71848
<b>7</b>	3	17,5	18,16728

O diagrama de Pareto é apresentado na Figura 6.27. Pode-se afirmar que para a hidrólise enzimática a carga enzimática (FPU.g<sup>-1</sup>), relação bagaço do sorgo/extrato enzimático (g L<sup>-1</sup>), influenciam o processo aumentando a concentração de glicose. Os dados foram analisados em nível estatístico de 95% de confiança.



**Figura 6.27.** Diagrama de Pareto para hidrólise enzimática para bagaço de sorgo sacarino BRS506 em 36 h.



É observado na Figura 6.27, a variável de entrada concentração de enzima foi a mais significativa em suas interações e a segunda variável foi a razão (massa do bagaço de sorgo  $g L^{-1}$ ) chegando a 95% de confiabilidade.

Encontra-se na tabela 6.30, os dados estatísticos referentes a ANOVA para Hidrólise Enzimática do bagaço de sorgo sacarino BRS506 pré-tratado em 36 horas.

**Tabela 6.30.** ANOVA para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo sacarino pré-tratado em 36 h.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Teste F
<b>Regressão</b>	6	53,30951	8,88491	1,6
<b>Resíduo</b>	3	3,880254	1,29341	
<b>Total</b>	10	67,56300		
<b>% R<sup>2</sup></b>		83		
		<b>F<sub>tabelado</sub> = 4,28</b>	<b>F<sub>calculado</sub> = 6,86</b>	

GL - Grau de liberdade; SQ - Soma dos quadrados; QM - Quadrado médio dos desvios; Teste F - (F<sub>calculado</sub> / F<sub>tabelado</sub>).

Encontra-se na Tabela 6.30, a análise de variância para o percentual de glicose produzida pela hidrólise enzimática, considerando-se apenas os parâmetros que foram significativos. Este modelo apresenta a variação obtida, que pode ser explicada pelo modelo e pela razão F<sub>calculado</sub>/F<sub>tabelado</sub> igual a 1,6 indicando que o mesmo se

apresenta estatisticamente significativo com 95% de confiança (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

O modelo estatístico codificado com as variáveis significativa é apresentado na Equação 14:

$$\text{Conc. g (g L}^{-1}\text{)} = 8,467 + 1,4546 \cdot \text{Rz} + 0,355 \cdot \text{CE} + 0,024748 \cdot \text{Rz} \cdot \text{CE} + 0$$

Em que:

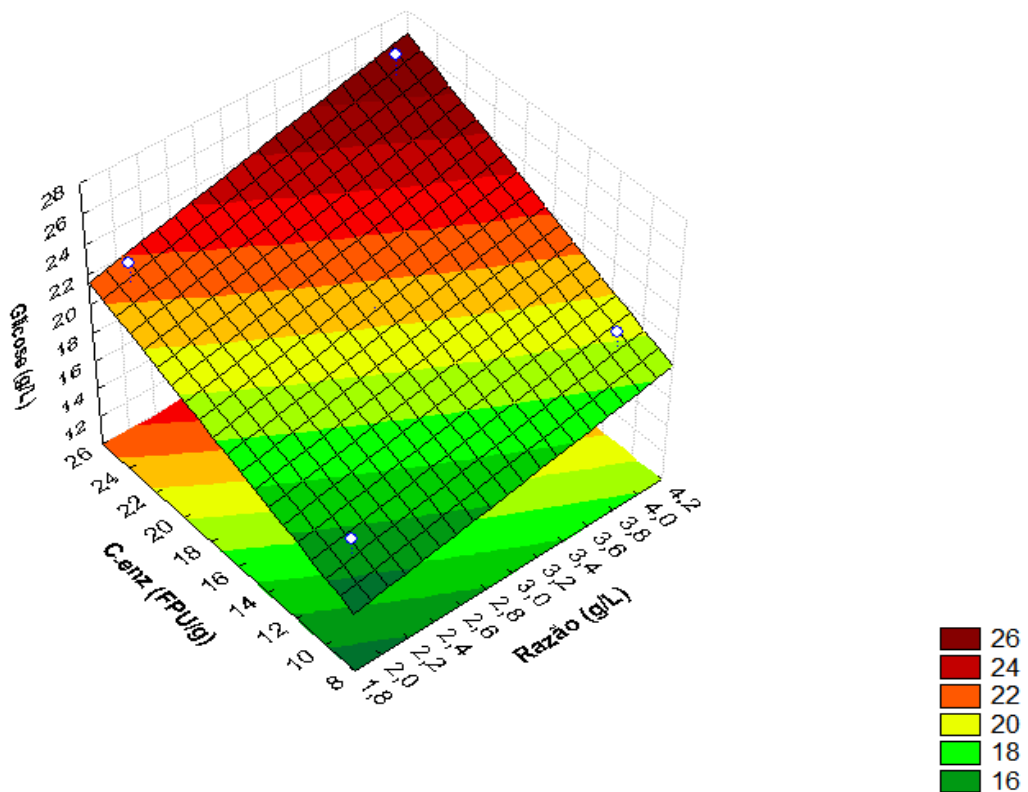
Conc. g (g L<sup>-1</sup>): Concentração de glicose;

Rz - Razão (massa de bagaço de sorgo);

CE - Carga enzimática.

De acordo com a superfície gerada (Figura 6.28) em função das variáveis para hidrólise do bagaço de sorgo sacarino BRS506 no período de 36 h pode-se analisar a produção de glicose.

**Figura 6.28.** Superfície de resposta para hidrólise enzimática do bagaço de sorgo sacarino BRS506 em 36 h



Pode ser observado na superfície de resposta (Figura 6.28) a variável concentração de glicose obtido da hidrólise enzimática do sorgo sacarino da variedade BRS506. Observa-se que as maiores concentrações de glicose do bagaço de sorgo, ocorreu para níveis mais altos de carga enzimática e razão (massa seca bagaço de sorgo/extrato enzimático) e menores valores para interação da razão e carga enzimática.

---

# Capítulo V

---

Conclusões e  
considerações finais

---

## 7. CONCLUSÕES

### 7.1. Etanol 1ª geração (caldo do sorgo)

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que:

- Os dados de campo obtidos constataam que as variedades são promissoras para produção de etanol de 1ª geração, quanto aos parâmetros SST (°Brix) na colheita, ART e produção de etanol teórico (ET);
- As cultivares BRS506, IPA EP17, IPA SF15 e IPA P134 demonstram ótimo adequação do desempenho nos dados de campo, seguindo resultados próximos as análises laboratoriais nos processos de fermentação e obtenção de etanol;
- A partir da fermentação do caldo de sorgo sacarino empregando a linhagem de *Saccharomyces cerevisiae* Y-904 com a adição de nutrientes ao meio, é possível obter condições adequadas para as cultivares BRS506, IPA EP17, IPA SF15 e IPA P134, que se destacaram no processo de produção de etanol de 1ª geração, com os resultados nas concentrações de etanol para BR506 em  $45,46 \pm 1,57 \text{ g L}^{-1}$ , com um fator de rendimento em produto de  $0,47 \pm 0,02 \text{ g.g}^{-1}$  e produtividade volumétrica de  $0,94 \pm 0,32 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  e eficiência de conversão em  $92,75 \pm 0,21\%$ , a para IPA SF15 de  $55,72 \pm 0,24 \text{ g L}^{-1}$ , com um fator de rendimento em produto de  $0,41 \pm 0,04 \text{ g.g}^{-1}$  e produtividade volumétrica de  $1,16 \pm 0,04 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  e eficiência de conversão em  $81,12 \pm 0,87\%$ , para variedade IPA EP17 os valores foram de  $44,60 \pm 0,18 \text{ g L}^{-1}$ , com um fator de rendimento em produto de  $0,35 \pm 0,00 \text{ g g}^{-1}$  e produtividade volumétrica de  $0,93 \pm 0,14 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  e eficiência de conversão em  $69,35 \pm 0,66\%$ , os valores para IPA P134 foram de  $31,78 \pm 0,28 \text{ g L}^{-1}$ , com um fator de rendimento em produto de  $0,40 \pm 0,03 \text{ g g}^{-1}$  e eficiência de conversão em  $79,21 \pm 0,59\%$  valores estes próximos aos obtidos nos processos industriais empregando caldo de cana-de-açúcar.

## 7.2. Etanol 2ª geração (bagaço do sorgo)

- A caracterização físico-química do bagaço do sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado ácido e básico para a variedade IPA EP17, apresenta a celulose nas concentrações de  $31,70 \pm 0,49$ ;  $54,45 \pm 0,75$  e  $60,42 \pm 0,91\%$  respectivamente. Para variedade BRS506 a caracterização físico-química do bagaço *in natura*, pré-tratado ácido e básico, apresenta os valores nas concentrações em  $40,6 \pm 1,1$ ;  $61,11 \pm 0,98$  e  $64,52 \pm 0,82\%$ , valores estes que comprovam a eficiência dos pré-tratamentos utilizados em ambos bagaços dos sorgos sacarinos para disponibilização da celulose.
- Através das análises de difratogramas de DRX, é possível verificar que o índice de cristalinidade na fração celulósica, para o bagaço de ambas variedades de sorgo sacarino nas condições *in natura*, pré-tratada ácido e básico. Além disto, apresentaram comportamento esperado em cada condição, mostrando a eficiência dos pré-tratamentos empregados, mesmo estes sendo em condições amenas.
- As análises termogravimétricas exploratórias nos bagaços das variedades de sorgo sacarino BRS506 e IPA EP17, foi possível observar mudanças nos picos de perda de massa nas temperaturas quanto as composições do bagaço; frações celulose, lignina e hemicelulose, havendo redução em suas concentrações devido as etapas de pré-tratamentos;
- Na hidrólise do bagaço pré-tratado ácido e básico de sorgo sacarino IPA EP17, o melhor valor obtido foi para ensaio 4, com  $26,23 \text{ g L}^{-1}$  de glicose, nas condições de maior valor de carga enzimática e maior relação massa seca de bagaço por volume de meio reacional ( $4\%$  e  $25 \text{ FPU g}^{-1}$ ) no tempo de 36 h de hidrólise;
- Na hidrólise do bagaço de sorgo sacarino BRS506 pré-tratado, o melhor valor obtido foi para ensaio 4, com  $25,16 \text{ g L}^{-1}$  de glicose, nas condições de maior valor de carga enzimática e maior relação massa seca de bagaço por volume de meio reacional ( $4\%$  e  $25 \text{ FPU.g}^{-1}$ ) com otimização em 36 h de hidrólise;
- Os bagaços de sorgo sacarino de ambas variedades trabalhadas propiciam a obtenção de etanol de segunda geração, devido ao seu alto teor de celulose e rendimento de hidrólise, e por ser um resíduo agroindustrial abundante e de baixo custo para obtenção de açúcares fermentescíveis.

### 7.3. Sugestões para trabalhos futuros (caldo do sorgo)

- Comparar o desempenho do processo batelada contínuo utilizando diferentes variáveis de resposta tais como, concentração final de etanol, produtividade e fatores de rendimento;
- Quantificar teores de amido no caldo de diferentes cultivares de sorgo sacarino;
- Utilização de amilases em caldo de sorgo sacarino para o aumento da concentração de glicose.

### 7.4. Sugestões para trabalhos futuros (bagaço de sorgo sacarino)

- Utilização de pré-tratamentos físicos (explosão a vapor e redução das partículas a tamanhos nano) em bagaços de sorgo sacarino e comparar com outros tipos de pré-tratamentos;
- Produção de xilitol a partir do bagaço de sorgo sacarino.

---

# Capítulo VI

---

Referências e  
apêndices

---



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBRUZZINI, T. F. **Qualidade e quantidade da matéria orgânica do solo em cultivo convencional e orgânico de cana-de-açúcar**. 2011, 92p. USP: Piracicaba. Dissertação Mestrado
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 7181: Solo - Análise Granulométrica, 1984.
- AGBOR, V. B.; CICK, N.; SPARLING, R.; BERLIN, A.; LEVIN, D. B. Biomassas pretreatment: Fundamentals toward application. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 675-685, 2011.
- ALMODARES, A.; HADI, M. R. Production of bioethanol from sweet sorghum: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, p. 772-780, 2009.
- ALMODARES, A.; SEPAHI, A. Comparison among sweet sorghum cultivars, lines and hybrids for sugar production. **Annals of Plant Physiology**, v. 10, n. 1, p. 50-55, 1996.
- ALPER, H.; STEPAHNOPOULOS, G. Engineering for biofuels: exploiting innate microbial capacity or importing biosynthetic potential? **Nature Reviews**, v. 7, p. 715-723, 2009.
- ALVINO, F. C. G.; WANDERLEY, J. A. C.; BRITO, M. E. B.; BARRETO, C. F.; FERNANDES, P. D.; LEITE, D. T. Rendimento de fitomassa do sorgo sacarino sob Sistema de captação de água “in situ”. **Agropecuária Científica no Semiárido**, 8: 54-59. 2012.
- AMORIM, H. V. **Fermentação alcoólica, ciência & tecnologia**. Piracicaba: Fermentec - Soluções tecnológicas, 2005. 448 p.
- BALAT, M.; BALAT, H.; CAHIDE, O. Progress in bioethanol processing. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 34, p. 551- 573, 2008.
- BANERJEE, S.; MUDLIAR, S.; SEN, R.; GIRI, B.; SATPUTE, D.; CHAKRABARTI, T.; PANDEY, P. R. Commercializing lignocellulosic bioethanol: technology bottlenecks and possible remedies. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v.4, p.77-93, 2010.
- BARCELOS, C. A. **Aproveitamento das frações sacarínea, amilácea e lignocelulósica do sorgo sacarino [*Sorghum bicolor* (L) Moench] para produção de bioethanol**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2012. Tese Doutorado
- BARCELOS, C. A.; MAEDA, R. N.; BETANCUR, G. J. V.; PEREIRA JR., N. Ethanol production from sorghum grains [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]: evaluation of the enzymatic hydrolysis and the hydrolysate fermentability. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 4, p. 597- 604, 2011.

BASTOS, V. D. **Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 25, p. 5-38, 2009.

BERNARDINO, K. C.; SOUZA, V. F.; JUNIOR, G. A. C.; MOURÃO, C. S.; SILVA, K. J.; SANTOS, C.V.; COSTA, R. K.; PARRELLA, R. A. C. Caracterização de cultivares de sorgo sacarino visando a produção de etanol de primeira e segunda geração. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo. **Anais...** Aguas de Lindóia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo p. 3169-3175. 2012.

BHAT, M. K.; BHAT, S. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications **Biotechnology Advances**, v. 15, n. 3/4, p. 583-620, 1997.

BOARETTO, A. E.; CHITOLINA, J. C.; RAIJ, B. VAN; SILVA, F. C. DA; TEDESCO, M. J.; CARMO, C. A. F. de S. do. **Amostragem, acondicionamento e preparação das amostras de plantas para análise química**. In: Silva, F.C. da (org.) Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília: EMBRAPA – Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, p. 49-73, 1999.

BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E. Biotecnologia Industrial, volume 1, Editora Edgard Blucher LTDA, 2008.

CABALLOS-SHIAVONE, C. M. H. **Tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar visando a redução de contaminantes bacterianos-*Lactobacillus*- na produção de etanol e eficiência de tratamento do fermento por etanol**, USP: São Paulo. 2009. Tese Doutorado

CAMPOS, D. B. C.; CONRADO, L. S.; MORAIS, C. R. S. Physical - Chemistry characterization of sweet sorghum bagasse in nature and delignificate with NaOH to produce bioethanol. **Defect and Diffusion Forum**, v. 365, p. 219-225, 2015.

CANAKCI, M.; SANLI, H. Biodiesel production from various feedstocks and their effects on the fuel properties. **Journal of Industrial and Microbiology Biotechnology**, v.35, p.431-441, 2008.

CANILHA, L.; MILAGRES, A. M. F.; SILVA, S. S.; SILVA, J. B. A.; FELIPE, M. G. A.; ROCHA, G. J. M.; FERRAZ, A.; CARVALHO, W. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. **Revista Analytica**, n. 44, p. 48-54, 2010.

CARDONA, C. A.; SÁNCHEZ, Ó. J. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities. **Bioresource Technology**, v.98, p.2415-2457, 2007.

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

CHANNAPPAGOUDAR, B. B. Assessment of sweet sorghum genotypes for cane yield, juice characters and sugar levels. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 20, n. 2, p. 294, 2009.

CHUCK-HERNÁNDEZ, C.; GARCÍA-LARA, S.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Conversion into bioethanol of insect (*Sitophilus zeamais* Motschulsky), mold (*Aspergillus flavus* Link) and sprout-damaged maize (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Journal of Cereal Science**, 2012.

CREMASCO, M. A. **Operações unitárias em sistemas particulados e fluidomecânicos**. São Paulo: Blucher, 2012.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Levantamento de safra 2017/2018**, para produção de cana-de-açúcar e etanol. Disponível em [www.conab.gov.com.br](http://www.conab.gov.com.br). Acesso: Setembro de 2017.

COR – Conselho Europeu, **Rumo a um acordo mundial sobre o clima em Paris**, 114.<sup>a</sup> reunião plenária de 12, 13 e 14 de outubro de 2015. Disponível no Portal dos Membros: <http://cor.europa.eu/members>. Acesso: março de 2016.

COSTA, A. C. A.; PEREIRA Jr., N.; ARANDA, D. A. G. The situation of biofuels in Brazil: New generation Technologies. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 3041-3049, 2010.

COSTA, G. H. G. **Emprego do extrato de moringa (*Moringa oleifera* Lamarck) na clarificação do caldo de cana para produção de açúcar**. 2013. 115p. - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013. Dissertação Mestrado

DALVI, U. S.; CHAVAN, U. D.; SHINDE, M. S.; GADAKH, S. R. Effect of staggered planting on stalk yield, sugar content and ethanol yield of sweet sorghum for increasing harvest window. **Sugar Tech.**, v. 14, n. 2, p. 144-147, 2012.

DRABER, K. M. M. **Etanol de segunda geração já é realidade**. Engenharia Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 54p. 2013.

DUTRA, E. D.; BARBOSA NETO, A. G.; MENEZES, R. S. C.; JÚNIOR, M. A. M.; NAGAI, M. A.; SANTOS, T. N. Produção de etanol a partir do mosto do colmo de diferentes cultivares de sorgo sacarino em Pernambuco. In: Simpósio Nacional de Bioprocessos, 18, Caxias do Sul, 2011. **Anais...** Caxias do Sul, 2011.

DUTRA, E. D.; BARBOSA NETO, A. G.; SOUZA, R. B.; MORAIS Jr., M. A.; TABOSA, J. N.; MENEZES, R. S. C. Ethanol production from the stem juice of different sweet . **Society for Sugar Research & Promotion**, v. 15, n. 3, p. 316-321, 2013.

EGGLESTON, G.; MONTES, B; MONGE, A. AND GUIDRY, D. Optimization of amylase application in raw sugar manufacture: Part II. **International Sugar Journal**, v. 109, n. 1305, p. 579-584, 2007.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de Produção, 2. **Cultivares do sorgo - Coeficientes técnicos**. Versão Eletrônica - 4<sup>o</sup> edição. Set. 2008. Disponível:

<[www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo\\_4\\_ed/cultivares.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo_4_ed/cultivares.htm)> Acessado: Agosto de 2014.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Milho e Sorgo- **Sistemas de Produção**, 5<sup>a</sup> edição. 2009.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Milho e Sorgo. **Cultivares de sorgo para o mercado brasileiro na safra 2011/2012**. Sete Lagoas, MG 2011.28 p. (Documentos /Embrapa Milho e Sorgo,117.

EMYGDIO, B. M.; AFONSO, A. P. S; OLIVEIRA, A. C. B.; PARRELLA, R.; SCHAFFERT, R. E.; MAY, A. **Desempenho de cultivares de sorgo sacarino para a produção de etanol sob diferentes densidades de plantas**. Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 2011, 22 p.

FALANGHE, H. **Produção de microrganismos**. In: LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. Biotecnologia: Tecnologia das fermentações, v. 1, p-246-245, 1975.

FERRARI, F. C. S. **Fatores operacionais e cinética do processo fermentativo para otimização da produção de etanol em escala industrial**. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2013.

FERREIRA, O.E. Produção de etanol a partir de sorgo sacarino com tratamento enzimático. Tese (doutorado em microbiologia Agropecuária). 2015. 79f. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015.

FERREIRA, A. S. **Influência do desponte de panículas de sorgo sacarino sobre a qualidade da matéria-prima e produção de bioetanol**, 2014. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2014.

FORNASIERI FILHO, D.; FORNASIERI, J. L. **Manual da cultura do sorgo**. Jaboticabal: Funep, 2009.

FREITA, L. A. **Avaliação tecnológica e microbiológica da fermentação etanólica de caldo de sorgo sacarino**. 2013. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2013.

GADEN JÚNIOR, E. C. Fermentation process kinetics. **The Journal of Microbial & Biochemical Technology**, v. 1, p. 413-429, 1959.

GALBE, M.; ZACCHI, G. **Produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos – Bietanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**, Luis Augusto Barbosa Cortez, coordenador. – São Paulo: Parte 4 – Cap.12, p.697-716 Blucher, 2010.

GALDINO, I. K. C. P. O.; SILVA, H.; SILVA, F. S. H. Qualidade do caldo do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L. Moench) para a produção de aguardente. **Biofar, Ver. Biol. Farm.** Campina Grande, 2013.

GAN, Q.; ALLEN, S. J.; TAYLOR, G. Kinetic dynamics in heterogeneous enzymatic hydrolysis of cellulose: an overview, an experimental study and mathematical modeling. **Bioprocess Biotechnology**, v. 38, p. 1003-1018, 2003.

GOLDEMBERG, J. The challenge of biofuels. **Energy and Environmental Science**, v. 1, p. 523-525, 2008.

GHOSE, T. K. Measurement of cellulose activities. **Pure and Applied Chemistry**, v.59, p.257-268, 1987.

GOMES, A.; RODRIGUES, D.; OLIVEIRA, P. Caracterização do sorgo para a produção de etanol. **Agroenergia em Revista**, p. 26, v. 2, n. 3, 2011.

GUIGOU, M.; LAREO, C.; PÉREZ, L. V.; LLLUVERAS, M. E.; VÁZQUEZ, D.; FERRARI, M. D. Bioethanol production from sweet sorghum: evaluation of post-harvest treatments on sugar extraction and fermentation. **Biomass and Bioenergy**, v 35, p. 3058-3063, 2011.

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, 2006.

HAN, L. P.; PITAMAN, W. D.; ALISON, M. W.; HARRELL, D. L.; VIATOR, H. P.; McCOMICK, M. E.; GRAVOIS, K. A.; KIM, M.; DAY, D. F. Agronomic considerations for sweet sorghum biofuel production in the South-Central USA. **Bioenergy Research**, v. 5, n. 3, p. 748-758, 2013.

HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C.; FISHER, B. D. **Microbiologia ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

HENDRICKS, A. T.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 10-18, 2009

HIMMEL, M. E.; FOUST, T. D.; IBSEN, K. N.; DAYTON, D. C.; HESS, J.; KENNEY, K. E. The biorefinery. In: **Biomass Recalcitrance: Deconstructing the Plant Cell Wall for Bioenergy**. Edited by Himmel ME. London: Blackwell; 2008.

HISS, H. **Cinética de processos fermentativos**. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.R (Coord.) **Biotechnology Industrial**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p.93-122

IAL - Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. Ministério da Saúde, 2005.

International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences – ISSAAS, Inc. Feasibility study for na Integrated Anhydrou Alcohol Production Plant Using Sweet Sorghum as Feedstock, 2007. Acesso: Julho de 2014. Disponível em: <http://www.bar.gov.ph/biofuelsinfo/downloads/FS%20of%20Sweet%20Sorghum.pdf>

JANK, M. S. **A competitividade do etanol brasileiro**. UNICA - União da Indústria de Cana-de-Açúcar, 2009. Acesso: Setembro 2015. Disponível em: [http://www.senado.gov.br/sf/comissoes/ci/ap/AP20090831\\_Comissao\\_Infraestrutura\\_Marcos%20\\_Jank\\_\(res\).pdf](http://www.senado.gov.br/sf/comissoes/ci/ap/AP20090831_Comissao_Infraestrutura_Marcos%20_Jank_(res).pdf).

JORGENSEN, H.; KRISTENSEN, J.B.; FELBY, C. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: Challenges and opportunities. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v.1, p.119-134, 2007.

JASSEN, T. W.; JIM, Y. S. Metabolic engineering for improved fermentation of pentoses by yeasts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.3, n.5, p.495-509, 2010.

KHALIL, S. R. A.; ABDELHAFEZ, A. A.; AMER, E. A. M. Evaluation of bioethanol production from juice and bagasse of some sweet sorghum varieties. **Annals of Agricultural Science**, v.60, n. 2, p. 317-324, 2015.

KIM, J.; YUN, S. Discovery of cellulose as a smart material. **Macromolecules**, v. 39, n. 12, p. 4202-4206, 2005.

LI, B.; BALAN, V.; YUAN, Y.; DALE, B. E. Process optimization to convert forage and sweet sorghum bagasse to ethanol based on ammonia fiber expansion (AFEX) pretreatment. **Bioresource Technology**, v 101, p. 1285-1292, 2010.

LIMA, F. C. dos S.; SILVA, F. L. H. da; GOMES, J. P.; SILVA NETO, J. M. Chemical composition of the cashew apple bagasse and potential use for ethanol production. **Advances in Chemical Engineering and Science**, v. 2, p.519-523, 2012.

LORA, E. S.; ANDRADE, R. V. Biomass as energy source in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, p. 777-788, 2009.

MASSON, I. S.; COSTA, I. G. H. G.; ROVIEROI, J. P.; FREITAI, L. A.; MUTTONI, A.; MUTTONI, M. J. R. Produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, v. 45, n. 9, p. 1695-1700, 2015.

MAY, A.; ALBUQUERQUE, C. J. B.; SILVA, A. F.; PEREIRA FILHO, I. A. Manejo e tratos culturais In: MAY, A.; DURÃES, F. O. M.; PEREIRA FILHO, I. A.; SCHAFFERT, R. E.; PARRELLA, R. A. C. (Ed.). **Sistema Embrapa de produção agroindustrial de sorgo sacarino para bioetanol: Sistema BRS1G - Tecnologia Qualidade Embrapa**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p. 22-31, 2012.

MAXIAGRO. **Sementes e cereais**, 2014. Disponível em <http://www.maxiagrors.com.br/index.php?id=2,12,0,0,1,0>. Acesso em: Março 2014.

McMILLAN, J. D. (1994). Pretreatment of lignocellulosic biomass. In: HIMMEL, M. E; BAKER, J. O; Overend, R. P. (Eds), **Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production**. American Chemical Society, Washington, DC, p.292-324, 1994.

MICHELLON, E.; SANTOS, A. A. L.; RODRIGUES, J. R. A. Breve descrição do Pró Álcool e perspectivas futuras para o etanol produzido no Brasil. XLVI Congresso da

Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, Universidade Estadual de Maringá, **Anais...** Maringá, 2008.

MORAIS, J. P. S.; ROSA, J. M.; MARCONCINI, M. F. **Procedimento para análise lignocelulósica**. Campina Grande: Embrapa algodão, Documento, v. 236, 54p, 2010.

MOSIER, N.; WYMAN, C.; DALE, B.; ELANDER, R.; LEE, Y. Y.; HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 673-686, 2005.

MOUSDALE, D. M. **Biofuels: Biotechnology, chemistry, and sustainable development**, CRC Press, 2008.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolysates for use in fermentative processes: a review. **Bioresource Technology**, v. 93, p. 1-10, 2004.

MUSSATO, S. I.; TEIXEIRA, J. A. Lignocellulose as raw material in fermentation processes. **Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, p. 897-907, 2010.

MUTTON, M. J. R. Reflexos da qualidade da matéria-prima sobre a fermentação etanólica. Workshop sobre produção de etanol: qualidade da matéria-prima. Lorena, 2008. Disponível em: < [www.apta.sp.gov.br](http://www.apta.sp.gov.br) >. Acesso: março 2014.

NAGAI, M. A. Produtividade de biomassa de sorgo sacarino sem irrigação na Zona da Mata Norte de Pernambuco. Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Recife, 2012.

NASCIMENTO, V. M.; ROCHA, G. J. M.; GIORDANO, R. C.; CRUZ, A. J. G.; GIORDANO, R. C. **Optimization of alkaline (NaOH) pretreatment of sugarcane bagasse for production of second generation bioethanol**. In: Society for Industrial Microbiology, 2011.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger princípios de bioquímica*, 5 ed. Porto Alegre: ArtMed, 2011. 1304 p.

NREL - National Renewable Energy Laboratory Chemical Analysis and Testing Task Laboratory. **Analytical procedure HPLC LAP-015 analysis of liquid fractions of process samples for byproducts and degradation products**, 2008a.

NREL - National Renewable Energy Laboratory Chemical Analysis and Testing Task Laboratory. **Analytical procedure HPLC LAP-014 dilute acid hydrolysis procedure for determination of total sugars in the liquid fraction of process samples**, 2008b.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidólise enzimática de biomassa: revisão, **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1549-1558, 2010.

OLIVEIRA, A. B. **Análise prospectiva da utilização de uma usina como plataforma para uma biorrefinarias**. 2010. 112p. São Paulo, 2010. Dissertação Mestrado

OLIVEIRA, I. K. C. P de; SILVA, H.; CONRADO, L. de S.; SILVA, F. L. H. da. Caracterização físico-química do bagaço do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor*) para hidrólise ácida do material lignocelulósico. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química, **Anais...**Uberlândia: UFU, 2009.

OLIVEIRA, J. R. M. **Avaliação de novas progênies de F6 de sorgo sacarino promissoras para produção de etanol na Zona da Mata de Pernambuco**, 2014. UFRPE: Recife. Dissertação Mestrado

OLIVEIRA, M.; VASCONCELOS, Y. Revolução no canavial: Novas usinas, variedades mais produtivas e pesquisas genéticas são as soluções para aumentar a oferta de álcool. **Revista FAPESP**, v.122, 2011.

PACHECO, T. F. Índices tecnológicos industriais para produção de etanol de sorgo sacarino. In: Seminário temático agroindustrial de produção de sorgo sacarino para bioethanol. **Anais...** Embrapa Agroenergia, 2012.

PACHECO, T. F.; GONÇALVES, S. B.; MACHADO, M. M.; PARRELLA, R. A. C. Avaliação do bagaço e biomassa de genótipos de sorgo sacarino para a produção de etanol celulósico. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, **Anais...**2014.

PANAGIOTOPOULOS, I. A.; BAKKER, R. R.; DE VRIJE, T.; KOUKIOS, E. G.; CLAASSEN, P. A. M. Pretreatment of sweet sorghum bagasse for hydrogen production by *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, p. 7738-7747, 2010.

PARRELLA, R. A. C.; MENEGUCI, J. L. P.; RIBEIRO, A.; SILVA, A. R.; PARRELLA, N. L. D.; RODRIGUES, J. A.; TARDIN, F. D.; SCHAFFERT, R. E. Desempenho de cultivares de sorgo sacarino visando à produção de etanol. Resumos expandidos. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, **Anais...** 2010.

PARRELLA, R. A. C.; MENEGUCI, J. L. P.; RIBEIRO, A.; SILVA, A. R.; PARRELLA, N. L. D.; RODRIGUES, J. A.; TARDIN, F. D.; SCHAFFERT, R. E. Desempenho de cultivares de sorgo sacarino em diferentes ambientes visando à produção de etanol. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 28, **Anais...** Goiânia. 2012.

PEREIRA FILHO, I. A.; PARRELLA, R. A. da C.; MOREIRA, J. A. A; MAY, A.; SOUZA, V. F. de S.; CRUZ, J. C. Avaliação de cultivares de sorgo sacarino (*Sorghum Bicolor* L Moench) em diferentes densidades de semeadura visando a característica importates na produção de etanol. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 2, p. 118-127, 2013.

PATARO, C.; GOMES, F.C.O.; ARAÚJO, R.A.C.; ROSA, C.A.; SCHWAN, R.F.; CAMPOS, C.R.; CLARET, A.S.; CASTRO, H.A. Utilização de leveduras selecionadas na fabricação da cachaça de alambique. **Informe Agropecuário**, EPAMIG, Belo Horizonte, v. 23, n. 217, p. 37-43, 2002.



PEREIRA Jr., N.; COUTO, M. A. P. G.; SANTA ANNA, L. M. M. Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery. **Series on Biotechnology**. Biblioteca Nacional: Rio de Janeiro, v. 2, 2008.

PHILIPPINI, R. R. **Variedades híbridas de bagaço de cana-de-açúcar: caracterização química e hidrólise enzimática em condições de pré-tratamento diferenciadas**. Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2012.

PIRES, A. J. V.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S. C. Degradabilidade do bagaço de cana-de-açúcar tratado com ammonia anidra e, ou, sufeto de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 1071, 2006.

PITARELO, A. P. Avaliação da susceptibilidade do bagaço e da palha de cana-de-açúcar a bioconversão via pré-tratamento a vapor e hidrólise enzimática. 2-7. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

RAJKUMARA, S. Lodging in cereals - A review. **Agricola Review**. v. 29, p. 55-60, 2008.

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

REDDY, B. V. S. **Sweet sorghum - A potential alternate raw material for bio-ethanol and bio-energy**. Sorghum Millets Newslett, Patancheru, India, v.46, p.79-86, 2005.

REIS, R. A., TEIXEIRA, I. A. M. de A., SIQUEIRA, G. R. Impacto da qualidade da forragem na produção animal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 580-608, 2006.

RIPOLI, T. C. C.; RIPOLI, M. L. C. **Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente**. Piracicaba: Barros & Marques Ed. Eletrônica, 2004. 302 p.

RIVEROL, C.; COONEY, J. Estimation of the ester formation during beer fermentation using neural networks. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 585-588, 2007.

ROCHA, G. J. M.; SILVA, J. S. Estudo comparativo de polpas celulósicas obtidas a partir de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por solução ácida e explosão a vapor. In: XVI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2006, Santos, SP. **Anais...Santos: COBEQ**, 2006.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de experimentos e otimização de processos: Uma estratégia sequencial de planejamentos. 1. ed. Campinas, SP: Casa do Pão Editora, 2005.

ROSILLO-CALLE, F.; BAJAY, S. V.; ROTHMAN, H. (Org.). **Uso da biomassa para produção de energia na indústria brasileira**. Campinas: UNICAMP, 2005. 447 p.

ROSSELL, C. E. V. Conversion of lignocellulose biomass (bagasse and straw) from the sugaralcohol industry into bioethanol. **Industrial Perspectives for Bioethanol**. Ed. Telma Franco, 2006. Cap. 8, p.123-142.

ROSSELL, C. E. V. Tecnologia agroindustrial de sorgo sacarino. In: Seminário Temático de Sorgo Sacarino. EMBRAPA Milho e Sorgo, **Anais...** Sete Lagoas, 2011.

RUEDA, S,M,G. **Pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagço de cana-de-açúcar**. UNICAMP: Campinas. 2010. Dissertação Mestrado

RUTTO, L. K.; XU, Y.; BRANDT, M.; REN, S.; KERING, M. K. Juice, ethanol, and grain yield potential of five sweet sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) cultivars. **Journal of Sustainable Bioenergy Systems**, v. 3, p. 113-118, 2013.

SADLLER J. N.; RAMOS, L. P.; BREUIL, C. **Steam pretreatment of lignocellulosic residues**. In: Bioconversion of Forest and Agricultural Plant Residues (Saddler, J.N., Ed.), CAB International, Wallingford, UK, p. 73-91, 1996.

SANCHEZ, J.; CARDONA, C. A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5270-5295, 2008.

SANTOS, A. M. **Estudo das influências da complementação de nutrientes no mosto sobre o processo de fermentação alcoólica em batelada**. 77p. 2008. UFAL: Maceió. 2008. Tese Doutorado.

SANTOS, A. L. F.; GOUVEIA, A. F. Enzymatic Saccharification of lignocellulosic materials after treatment with supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, p. 277-282, 2011.

SANTOS, F. A.; QUEIROZ, J. H. de; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES, V. M.; REZENDE, S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012.

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

SCANDIFFIO, M. I. G. **Análise prospectiva do álcool combustível no Brasil - Cenários 2004-2024**. 182p. UNICAMP: Campinas, 2005. Tese Doutorado

SCHAFFERT, R. E.; PARRELLA, R. A. C. **Planejamento Industrial**. In: MAY, A. (ed.) Sistema Embrapa de Produção Agroindustrial de sorgo sacarino para bioethanol: Sistema BRS1G-Tecnologia Qualidade Embrapa. Sete Lagoas, Embrapa milho e sorgo, p.85-92, 2012.

SENE, L.; ARRUDA, P. V.; OLIVEIRA, S. M. M.; FELIPE, M. G. A. Evaluation of sorghum straw hemicelluloses hydrolysate for biotechnological production of xylitol by *Candida guilliermondii*. **Brazilian Journey of Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 1141-1146, 2011.

SHEN, W. L.; KWON, Y.; ADEGBOLA, A. A.; LUO, J.; CHESS, A.; MONTELL, C. Function of rhodopsin in temperature discrimination in *Drosophila*. **Science**, v. 331, p. 1333-1336, 2011.

SHEEHAN, J. J. Biofuels and the conundrum of sustainability. **Corrent Opinion Biotechnology**, v. 20, p. 318 -324, 2009.

SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. e. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. In: World Congress on Computers in Agriculture, 7, 2009. **Anais...** Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SILVA FILHO, J. G. da; FIGUEIREDO, R. C. de; BONFIM, A. O. R.; Simplício, J. B.; TABOSA, J. N.; REIS, O. V. dos. Potencial máximo de produção de biomassa sob irrigação - Cultivos de sorgo forrageiro IPA 467-4-2 (Seleção 2) no Sertão sergipano. IN: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 26, **Anais...** Belo Horizonte. 2006.

SILVA, R. B.; WOLQUIND. C. S.; SILVA, F. S.; PORTO, A. G.; SILVA, F. T. C. Aplicação da produção mais limpa no processo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar. Encontro Nacional de Engenharia de Produção. **Anais...** Rio de Janeiro, 2008.

SILVA, R. N. O. da; ARNHOLD, E.; ARAÚJO, B. L. de; OLIVEIRA, G. H. F.; COSTA, J. R. da S.; OLIVEIRA JÚNIOR, E. A.; LIMA, C. F. de. Comportamento agrônômico de cultivares de sorgo granífero avaliados em safrinha. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 3, p. 39-43, 2010.

SIVERS, M.V.; ZACCHI, G. A techno-economical comparison of three processes for the production of ethanol from pine. **Bioresource Technology**, v. 51, p. 43-52, 1995.

SILVERSTEIN, R.; CHEN, Y. E., SHARMA-SHIVAPPA, R.; BOYETTE, M.; OSBORNE, J. A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. **Bioresource Technology**, v.98, p. 3000-3011, 2007.

SOTO, M. L.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; LEMA, J. M. Enzymatic saccharification of alkali-treated sunflower hulls. **Bioresource Technology**, v.49, p.53–59, 1994.

SOUZA, C. C.; DANTAS, J. P.; SILVA, S. M.; ALMEIDA, F. A.; SILVA, L. E. Produtividade do sorgo granífero cv. Sacarino e qualidade de produtos formulados isoladamente ou combinados ao caldo de cana-de-açúcar. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 512-517, 2005.

SPIRIDON, L.; POPA, V. I.; **Hemicelluloses: major sources, properties and applications**. In: BELGACEM, M. N.; GANDINI, A. (Ed.). Monomers, polymers and composites from renewable resource. Amsterdam: Elsevier, 2008, p.289-304.

STATSOFT, Inc. Statistica (data analysis software system), version 8.0. Informação disponível em: [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com). Statsoft, Inc., 2002.

STROPPA, C. T.; ALVES, J. G. L. F.; FIGUEIREDO, A. L. F.; CASTRO, C. C. Parâmetros cinéticos de linhagens de levedura isoladas de alambiques mineiros. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 1978-1983, 2009.

SUN, Y; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresour Technology**, v. 83, p. 1-11, 2002.

TABOSA, J. N.; REIS, O. V.; NASCIMENTO, M. M. A.; LIMA, J. M. P.; SILVA, F. G.; FILHO, J. G. S., BRITO, A. R. M. B., RODRIGUES, J. A. S. O Sorgo sacarino no Semi Árido Brasileiro: Elevada produção de biomassa e rendimento de caldo. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 28, 2010, Goiânia-GO. **Anais...** Goiânia: ABMS, 2010.

TABOSA, J. N.; REIS, O. V.; BRITO, A. R. M. B.; MONTEIRO, M. C. D.; SIMPLÍCIO, J. B.; OLIVEIRA, J. A. C. de; SILVA, F. G. da; AZEVEDO NETO, A. D.; DIAS, F. M.; LIRA, M. A.; TAVARES FILHO, J. J.; NASCIMENTO, M. M. A.; LIMA, L. E.; CARVALHO, H. W. L.; OLIVEIRA, L. R. Comportamento de cultivares de sorgo forrageiro em Diferentes ambientes agroecológicos dos estados de Pernambuco e alagoas. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 1, n. 2, p. 47-58, 2002.

TÍMÁR-BALÁZSY, A.; EASTOP, D. **Chemical principles of textile conservation**. Butterworth Heinemann, Oxford. UK: Butterworth-Heinemann, 1998.

THYGESEN, A.; ODDERSHEDE, J.; LILHOLT, H.; THOMSEN, A.B.; STAHL, K. On the determination of crystallinity and cellulose content in plant fibres. **Cellulose**, v. 12, p. 565-567, 2005.

TONIATO, J. **Determinação de parâmetros cinéticos de fermentação alcoólica em diferentes substratos**, UNESP – Campus Botucatu, 2013.

TRINDADE, W. G.; MEGIATTO, W.; RAZERA, J.; CASTELLAN, D.; FROLLIN, A. T. Polpação do curauá visando posterior sacarificação. **Biomacromolecules**, v. 6, p. 2485-2496, 2005.

TRINDER, P. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *Journal of Clinical Pathology*, v. 22, p. 158-161, 1969.

TRUPIA, S.; BAZZELL. J.; TARPINIAN, M. **Sorghum Checkoff**. RN002-13. Advancing Biofuels Research – NCERC at SIUE. Laboratory Research Division, 2013.

TSUCHIHASHI, N.; GOTO, Y. Cultivation of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Moench and determination of its harvest time to make use as the raw material for fermentation, practiced during rainy season in dry land of Indonésia. **Plant Production Science**, v. 7, p. 442-448, 2004.

UDOP – União dos Produtores de Bioenergia; G7 firma compromisso para acabar com uso de combustíveis fósseis até 2100. Disponível em: <http://www.udop.com.br/index.php?item=noticias&cod=1126107> Acesso: Julho 2016.

USD - **From biomass to cellulosic ethanol: genomics for alternative fuels** (2009). Disponível em:<[http://genomicscience.energy.gov/biofuels/Biofuels\\_Placemat2.pdf](http://genomicscience.energy.gov/biofuels/Biofuels_Placemat2.pdf)>. Acesso: Julho 2013.

USDA – United States Department of Agriculture. **USDA Agricultural Projections to 2020**. Long-term Projections Report OCE, p. 1-100, 2014.

USDE - **Department of Energy** (USA) 2006.

VASCONCELOS, S. M. **Pré-tratamentos hidrotérmico e com ácido fosfórico diluído de bagaço de cana-de-açúcar para aplicação em biorefinarias**. (Tese 2012).

VASILAKOGLUA, I.; DHIMAB, K.; KARAGIANNIDIS, N.; GATSIS, T. Sweet sorghum productivity for biofuels under increased soil salinity and reduced irrigation. **Field Crops Research**, v. 120, p. 38-46, 2011.

VIEGAS, M. C. **Otimização de sistema de fermentação alcoólica contínua utilizando reatores tipo torre e leveduras com características floculantes**. UNICAMP: Campinas, 150p. 2003. Tese Doutorado

VIERAS, R. G. P.; RODRIGUES FILHO, G.; ASSUNÇÃO, R. M. N. de; MEIRELES, C. da S.; VIEIRA, J. G.; OLIVEIRA, G. S. de. Synthesis and characterization of methyl cellulose from sugar cane bagasse cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, p. 182-189, 2007.

WANG, Y. X.; LU, Z. X. Optimization of processing parameters for the mycelial growth and extracellular polysaccharide production by *Boletus* spp. ACCC 50328. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 3-4, p. 1043-1051, 2012.

WU, X.; ZHAO, R.; BEAN, S. R.; SEIB, P. A.; MCLAREN, J. S.; MADL, R. L.; TUINSTRA, M.; LENZ, M. C.; WANG, D. Factors impacting ethanol production from grain sorghum in the dry-grind process. **Cereal Chemistry**, v. 84, p. 130-136, 2007.

YU, Y.; LOU, X.; WU, H. Some recent advances in hydrolysis of biomass in hotcompressed water and its comparisons with other hydrolysis methods. **Energy and Fuels**, v. 22, p. 46-60, 2010.

YUVRAJ, R. K.; UPPAL, S. K.; SHARMA, P.; OBEROI, H. S. Chemical composition of sweet sorghum juice and its comparative potential of different fermentation processes for enhanced ethanol production. **Sugar Tech**, v. 15, n. 3, p. 305-310, 2013.

ZANCANER, L. G. **Pró-Álcool - Programa Brasileiro de Álcool**. Biodieselbr.com. 2008.

ZEGADA-LIZARAZU, W.; MONTI, A. Are we ready to cultivate sweet sorghum as a bioenergy feedstock? A review on field management practices. **Biomass and Bioenergy**, v.40, p. 1-12, 2012.

ZHANG, W. Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p. 367-375, 2008.

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

ZHENG, Y.; ZHAO, J.; XU, F.; LI, Y. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 42, p. 35-53, 2014.

ZHAO, X. B.; WANG, L.; LUI, D. H. Paracetic acid pretreatment of sugarcane bagasse of enzymatic hydrolysis: a continued work. **Journal of chemical Technology and Biotechnology**, v. 83, p. 950-956, 2009.

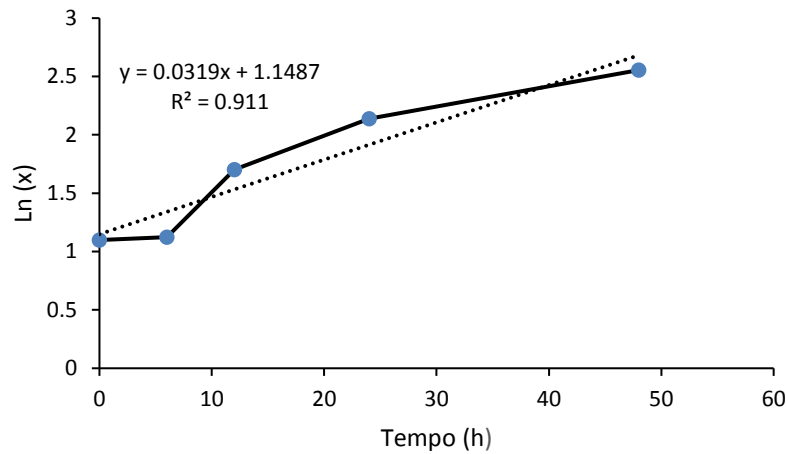
## APÊNDICES

## APÊNDICE - A

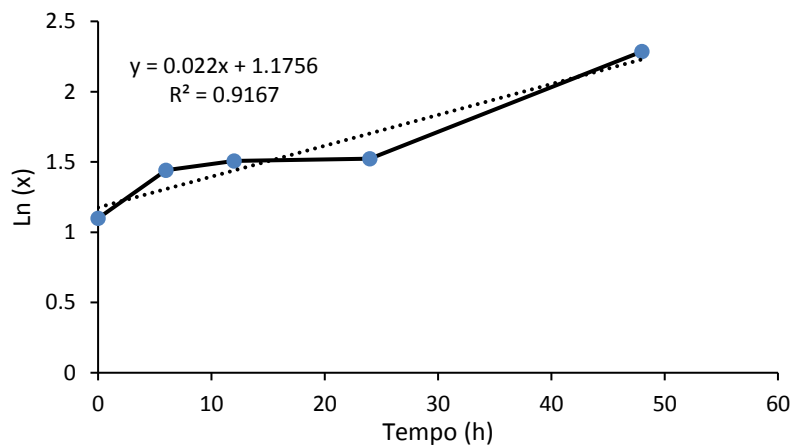
### Velocidade específica do crescimento microbiano para etanol de 1ª geração

Estão apresentadas nas Figuras A1, A2, A3, A4, A5, A6 e A7 os perfis da cinética da velocidade específica do crescimento celular ( $\mu_{\max}$ ) para etanol de 1ª geração para as cultivares BRS 506, IPA P134, IPA EP17, IPA P15, IPA P222, IPA P228 e IPA P2502 respectivamente.

**Figura A1.** Gráfico da velocidade máxima para crescimento celular ( $\mu_{\max}$ ) na fermentação do caldo de sorgo sacarino BRS 506.

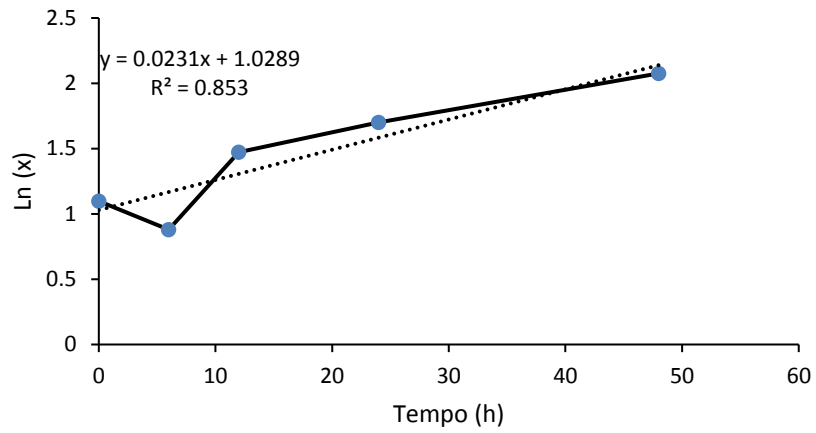


**Figura A2.** Gráfico da velocidade máxima para crescimento celular ( $\mu_{\max}$ ) na fermentação do caldo de sorgo sacarino IPA 2502.

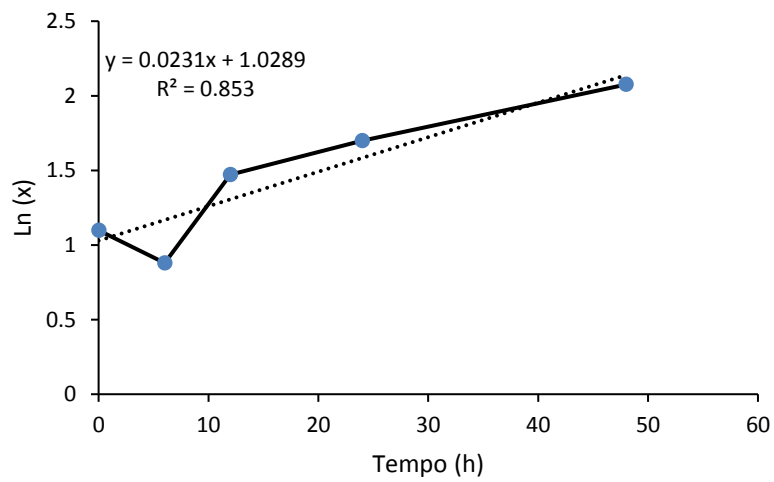




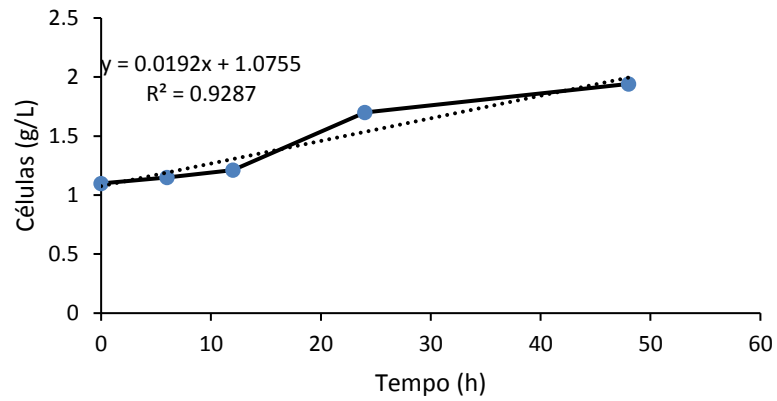
**Figura A3.** Gráfico da velocidade máxima para crescimento celular ( $\mu_{\max}$ ) na fermentação do caldo de sorgo sacarino IPA EP17.



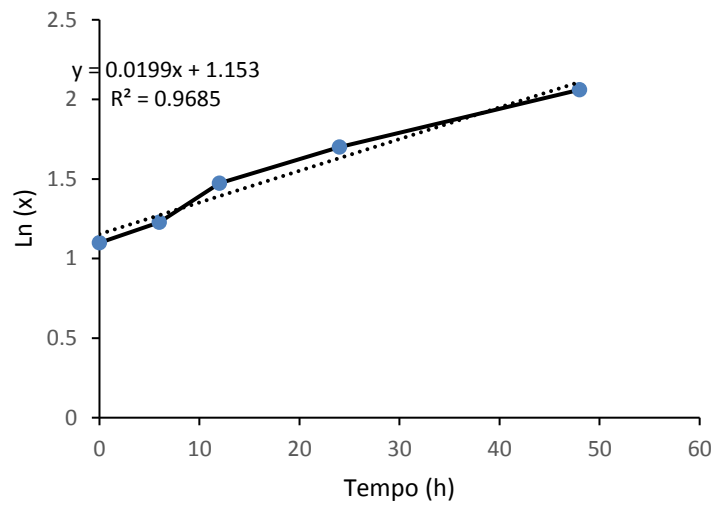
**Figura A4.** Gráfico da velocidade máxima para crescimento celular ( $\mu_{\max}$ ) na fermentação do caldo de sorgo sacarino IPA 2502.



**Figura A5.** Gráfico da velocidade máxima para crescimento celular ( $\mu_{\max}$ ) na fermentação do caldo de sorgo sacarino IPA P222.



**Figura A6.** Gráfico da velocidade máxima para crescimento celular ( $\mu_{\max}$ ) na fermentação do caldo de sorgo sacarino IPA P228.



**Figura A7.** Gráfico da velocidade máxima para crescimento celular ( $\mu_{\max}$ ) na fermentação do caldo de sorgo sacarino IPA P15.

