

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE



PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
PROCESSOS**

**HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO SORGO SACARINO (*Sorghum bicolor*
L. Moench) PARA PRODUÇÃO DE AÇÚCARES FERMENTESCÍVEIS**

DANIEL BARACUY DA CUNHA CAMPOS

CAMPINA GRANDE - PARAÍBA

AGOSTO - 2015

DANIEL BARACUY DA CUNHA CAMPOS

**HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO SORGO SACARINO (*Sorghum bicolor*
L. Moench) PARA PRODUÇÃO DE AÇÚCARES FERMENTESCÍVEIS**

**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: Desenvolvimento de Processos

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Líbia de Sousa Conrado Oliveira

CAMPINA GRANDE - PARAÍBA

AGOSTO - 2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

C198h Campos, Daniel Baracuy da Cunha.
Hidrólise enzimática do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L.Moench) para produção de açúcares fermentescíveis / Daniel Baracuy da Cunha Campos. – Campina Grande, 2015.
117 f.: il. color.

Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2015.

"Orientação: Prof^ª. Dr^ª. Líbia de Sousa Conrado Oliveira".
Referências.

1. Resíduos Lignocelulósicos. 2. Celulose. 3. Pré-Tratamento. 4. Hidrólise Enzimática. 5. Etanol. I. Oliveira, Líbia de Sousa Conrado. II. Título.

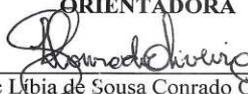
CDU 676.08(043)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO DE DANIEL BARACUY DA CUNHA CAMPOS APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS DO CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE.

Tese de Doutorado Aprovada em: 27 de Agosto de 2015

TESE AVALIADA EM: 27 / 08 /2015

ORIENTADORA



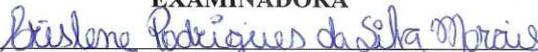
Prof. D.Sc. Líbia de Sousa Conrado Oliveira (UFCG)

EXAMINADOR



Prof. D.Sc. Vimário Simões Silva (UFCG)

EXAMINADORA



Prof. D.Sc. Crislene Rodrigues Silva Moraes (UFCG)

EXAMINADOR



D.Sc. Douglas Alexandre Saraiva Leão (UFCG)

EXAMINADOR



Prof. D.Sc. Carlos Alberto Bispo de Sousa (UFPB)

Campina Grande, Agosto 2015

*Dedico a Deus, a minha família, a minha esposa e a todos que contribuíram
para a concretização deste sonho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me abençoar todos os dias e me proteger;

Aos meus pais, Fernando Antônio Campos e Julieta Baracuy da Cunha Neta Campos pelo apoio, carinho e dedicação que me foi dado em todas as decisões que precisei tomar;

Aos meus irmãos João Hugo Campos e Fernanda Campos, pela união que permeia nossa família;

A minha esposa Rennaly de Freitas Lima, pelo amor a mim dedicado, pela compreensão, pelo incentivo, pela paciência, sempre me dando forças e me acompanhando nos meus trabalhos;

A Professora Dr^a. Líbia de Sousa Conrado, pela amizade, pela força dada, pela paciência e principalmente pela orientação e ensinamentos;

A Professora Dr^a. Crislene Rodrigues Silva Moraes por tanto ter ajudado na execução desse trabalho, sempre muito prestativa;

A todos os amigos do Laboratório de Engenharia Bioquímica, Rebeca, Neto, Clebson, Bispo, Bruno, Douglas e todos os outros que

Aos funcionários da Unidade acadêmica de contribuíram de alguma forma, por sempre terem me ajudado nos meus trabalhos. Engenharia Química (UAEQ), Jardes Caiçara, José Lopes, Zezinho, Cajá, a todos que puderam de alguma forma me ajudar;

A Adriano Sant`ana por ter me ajudado na execução do meu trabalho;

Aos estudantes do curso de Engenharia Civil da Universidade Estadual da Paraíba, Júlio Lopes e José Arnaldo Pina Neto, por terem ajudado na execução desse trabalho;

A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos, que nos apoiam e auxiliam dividindo seus conhecimentos, em especial ao ex

Coordenador Professor Dr. Antônio Gilson Barbosa de Lima e ao atual coordenador professor Dr. Severino Rodrigues de Farias Neto;

A Universidade Federal de Campina Grande por me conceder a concretização deste projeto;

A Universidade Estadual da Paraíba, em especial ao Campus VIII pela liberação quando possível das minhas atividades para conclusão dos meus estudos;

À CAPES, pelo suporte financeiro concedido durante o período de doutorado.

RESUMO

Os resíduos lignocelulósicos são os mais abundantes no mundo e há atualmente uma preocupação mundial em aproveitá-los como matéria-prima na produção de bioetanol, sendo isso possível devido a esses resíduos serem materiais ricos em celulose. A celulose é um polímero de cadeia longa composta de um só monômero a glicose, unidos por uma ligação glicosídica β -1-4. A glicose pode ser transformada em álcool etílico via fermentação, podendo a mesma ser obtida da celulose via hidrólise enzimática ou via hidrólise ácida. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial da utilização do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L. Moench) através da hidrólise enzimática, para produção de açúcares fermentescíveis. O sorgo sacarino foi caracterizado físico-quimicamente *in natura* e após as etapas de pré-tratamento através de métodos convencionais e por meio das técnicas DRX, MEV, TG, DSC, também foram realizadas análises granulométricas, ensaios de resistência a flexão e quantificação de açúcares pelo método CLAE. Foram realizadas etapas de pré-tratamento básico e ácido, cujas foram conduzidas em um reator pressurizado, assim como realizado a hidrólise enzimática, em ambos os processos foi utilizado como ferramenta um planejamento experimental 2³, no qual foi avaliado o tempo, temperatura e concentração de NaOH e H₂SO₄ nas etapas de pré-tratamento, e o efeito da carga enzimática (FPU.g⁻¹), da relação massa de sorgo/volume extrato (g.mL⁻¹) e a rotação do shaker, para etapa de hidrólise. Foram utilizadas na hidrólise enzimática as enzimas comerciais Celluclast 1.5L da Novozyme e a beta-glicosidase da Proenzyme, 3,00g de substrato, temperatura de 55 °C e pH 4,8 . As etapas de pré-tratamento concentraram a alfa-celulose, a qual passou de 32,75% no sorgo *in natura* para 66,15% no sorgo pré-tratado básico e 54,99% no sorgo pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido. As análises por DRX comprovaram mudanças na cristalinidade do material e as análises por MEV mostraram modificações na morfologia do bagaço. Por meio das análises de TG/DTG e DSC foi comprovado a degradação da hemicelulose e lignina, quando se utilizou os pré-tratamentos. Através do ensaio de resistência a flexão verificou-se mudanças nas propriedades mecânicas do sorgo *in natura*, para sorgo após etapas de pré-tratamento. A hidrólise enzimática foi realizada no sorgo sacarino *in natura* e pré-tratado com NaOH, obteve-se uma concentração de glicose de 16713,7 mg.L⁻¹ para o sorgo sacarino *in natura* e de 31639,3 mg.L⁻¹ para o bagaço pré-tratado com NaOH, ambos no tempo de hidrólise de 48 horas.

Palavras-chave: resíduos lignocelulósicos, celulose, pré-tratamento, hidrólise enzimática, etanol.

ABSTRACT

The lignocellulosic residues are the most abundant in the world and currently there is a worldwide concern in reuses them as raw material in the production of bioethanol, its being possible due to these waste materials are rich in cellulose. Cellulose is a long chain polymer composed of one monomer glucose, linked by a glycosidic bond β -1-4. Glucose can be converted into ethyl alcohol via fermentation, and this can be achieved by enzymatic hydrolysis of cellulose and via acid hydrolysis. The main goal of this work was to evaluate the potential use of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) by enzymatic hydrolysis to produce fermentable sugars. The sorghum was characterized physico-chemically *in nature* and after completes the pretreatment steps by conventional methods and through techniques of DRX, MEV, TG, DSC, It was also held grain size analysis strength flexion assay and sugars quantification by CLAE method. The basic pretreatment steps ware performed and acid, which were conducted in a pressurized reactor, as carried out enzymatic hydrolysis in both cases it was used as an experimental planning tool, design 2³, in which was evaluated time, temperature and NaOH and H₂SO₄ concentration, in the stages of pretreatment, and the effect of the enzyme load (FPU.g-1), the mass of sorghum / volume ratio extract (g.mL-1) and the rotation shaker for hydrolysis step. They were used in the enzymatic hydrolysis of commercial enzymes Celluclast 1.5L and Novozyme beta-glucosidase proenzyme, 3,00g substrate temperature of 55 °C and pH 4.8, The pretreatment steps concentrate alpha-cellulose, which increased from 32.75% to sorghum *in nature* to 66.15% in the basic pre-treated sorghum and 54.99% in the basic pretreated sorghum followed by pretreatment acid. The DRX analyzes confirmed changes in crystallinity and MEV analysis showed changes in the residue morphology. Through TG/DTG and DSC analysis was confirmed the hemicellulose and lignin degradation, when using pretreatments. Through the flexural strength assay was found that are changes in the mechanical properties of the *in nature* sorghum after pretreatment steps. Enzymatic hydrolysis was conducted on sweet sorghum *in natura* and pretreated with NaOH, obtained a glucose concentration of 16713.7 mg l-1 for sweet sorghum *in nature* and 31639.3 mg L-1 for the pre-treated pulp with NaOH, both in the hydrolysis time was 48 hours.

Keywords: lignocellulosic residues , cellulose, pre-treatment, enzymatic hydrolysis, ethanol

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 : Processamento de Cana-de-açúcar no Brasil.....	6
Figura 2: Planta do sorgo sacarino	10
Figura 3: Produção anual do sorgo sacarino no Brasil.....	12
Figura 4: Esquema de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica	15
Figura 5: Fluxograma dos procedimentos para obtenção de açúcares fermentescíveis	21
Figura 6: Moinho de Facas utilizado para trituração do sorgo sacarino	22
Figura 7: Reator Paar, utilizado nas etapas de pré-tratamento.....	23
Figura 8: Equipamento AUTOGRAF AG-X 50KN da SHIMADZU para realização do ensaio de flexão	28
Figura 9: Incubadora Shaker	31
Figura 10: CLAE (Cromatógrafo líquido de alta eficiência), para quantificação de açúcares fermentescíveis	33
Figura 11: Distribuição granulométrica do sorgo sacarino <i>in natura</i>	38
Figura 12: Diagrama de Pareto para interação temperatura, tempo e concentração no processo de pré-tratamento com NaOH do sorgo sacarino <i>in natura</i>	42
Figura 13: Superfície de Resposta (2^3) para a resposta do rendimento do pré-tratamento básico do sorgo sacarino <i>in natura</i>	43
Figura 14: Diagrama de Pareto para interação temperatura, tempo e concentração no processo de pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos.....	46
Figura 15: Superfície de Resposta (2^3) para a resposta de rendimento do pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos.....	46
Figura 16: Diagrama de Pareto para interação temperatura, tempo e concentração na etapa de pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido.....	53
Figura 17: Superfície de Resposta (2^3) para a resposta rendimento do pré-tratamento básico seguido do pré-tratamento ácido	54
Figura 19: Distribuição granulométrica do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido	57

Figura 20: Difratoograma de raios-x do sorgo sacarino <i>in natura</i> , pré-tratado básico, pré-tratado básico livre de extrativos e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido	58
Figura 21 : Micrografia do sorgo sacarino <i>in natura</i> (a)100x, (b) 300x, (c) 500x, (d) 1000x	61
Figura 22 : Micrografia do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH. (a)100x, (b) 300x, (c) 500x, (d) 1000x	62
Figura 23 : Micrografia do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH livre de extrativos (a)100x, (b) 300x, (c) 500x, (d) 1000x	63
Figura 24 : Curvas TG/DTG do sorgo sacarino <i>in natura</i> , obtidas em atmosfera de N ₂ com razão de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000 °C.....	65
Figura 25 : Curva TG/DSC do sorgo sacarino <i>in natura</i>	68
Figura 26 : Curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, obtidas em atmosfera de N ₂ com razão de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000 °C.....	69
Figura 27 : Curva TG/DSC do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH	70
Figura 28 : Curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos, obtidas em atmosfera de N ₂ com razão de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000 °C.	71
Figura 29 : Curva TG/DSC do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos	73
Figura 30 : Curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, obtidas em atmosfera de N ₂ com razão de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000 °C.....	74
Figura 31 : Curva TG/DSC do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido	76
Figura 32 : Diagrama de Pareto para a hidrólise do sorgo sacarino <i>in natura</i> em 48 horas	84
Figura 33 : Superfície de resposta (2 ³) para a produção de glicose por hidrólise enzimática do sorgo sacarino <i>in natura</i> no tempo de 48 horas	84
Figura 34 : Diagrama de Pareto para a hidrólise do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH em 48 horas	87

Figura 35: Superfície de resposta para a produção de glicose no tempo de 48 horas por hidrólise enzimática do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH..... 88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição química parcial dos principais resíduos lignocelulósicos.....	5
Tabela 2: Composição da planta sorgo sacarino e da cana-de-açúcar.....	11
Tabela 3: Comparação entre hidrólise enzimática e ácida	17
Tabela 4: Matriz de planejamento fatorial $2^3 + 3$ repetições no ponto central para o processo de pré-tratamento	24
Tabela 5: Matriz de planejamento fatorial $2^3 + 3$ repetições no ponto central para o processo de pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido	25
Tabela 6: Matriz da hidrólise enzimática do sorgo sacarino	31
Tabela 7: Matriz do planejamento experimental 2^3 para a hidrólise enzimática do sorgo sacarino	32
Tabela 8: Caracterização química do sorgo sacarino <i>in natura</i> expresso em valores percentuais (%).....	34
Tabela 9: Rendimento da etapa de pré-tratamento básico do sorgo sacarino <i>in natura</i>	39
Tabela 10: Análise da variância (ANOVA) para o pré-tratamento básico.....	40
Tabela 11: Rendimento do pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos	44
Tabela 12: Análise da variância (ANOVA) para o pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos	45
Tabela 13: Caracterização química do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH expresso em valores percentuais (%)	47
Tabela 14: Rendimento do pré-tratamento básico, seguido do pré-tratamento ácido para o sorgo sacarino	51
Tabela 15: Análise da variância (ANOVA) para a etapa de pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido.....	52
Tabela 16: Caracterização química do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido expresso em valores percentuais (%).....	55
Tabela 17: Índices de cristalinidade do bagaço do sorgo sacarino <i>in natura</i> e após os processos de pré-tratamento	59

Tabela 18: Dados obtidos nas curvas TG/DTG do sorgo sacarino <i>in natura</i>	
Tabela 19: Dados obtidos na curva DSC do sorgo sacarino <i>in natura</i>	68
Tabela 20: Dados obtidos nas curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH.....	69
Tabela 21: Dados obtidos na curva DSC do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH....	71
Tabela 22: Dados obtidos nas curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos	72
Tabela 23: Dados obtidos na curva DSC do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos	73
Tabela 24: Dados obtidos nas curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido.....	75
Tabela 25: Dados obtidos da curva DSC do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido	76
Tabela 26: Dados referentes ao ensaio de resistência a flexão.....	77
Tabela 27: Concentração teórica de glicose para condição trabalhada, para o sorgo sacarino <i>in natura</i> , pré-tratado com NaOH e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido	80
Tabela 28: Matriz de planejamento da hidrólise enzimática do sorgo sacarino <i>in natura</i> na melhor condição (48 horas)	82
Tabela 29: Análise de variância (ANOVA) para o licor hidrolisado do sorgo sacarino <i>in natura</i> com 48 horas de hidrólise	83
Tabela 30: Matriz de planejamento da hidrólise enzimática do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH na melhor condição de hidrólise (48 horas)	85
Tabela 31: Análise de variância (ANOVA) para o licor hidrolisado do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, no tempo de hidrólise de 48 horas	86

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
3.1. MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS	4
3.1.1. Celulose	6
3.1.2. Hemicelulose	7
3.1.3. Lignina	8
3.2. SORGO SACARINO	9
3.3. PRÉ-TRATAMENTO DOS MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS.....	12
3.4. HIDRÓLISE	16
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1 PREPARO DO MATERIAL.....	21
4.2. ANÁLISE GRANULOMÉTRICA.....	22
4.3. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA	23
4.4. PRÉ-TRATAMENTO BÁSICO	23
4.5. PRÉ-TRATAMENTO BÁSICO SEGUIDO DE PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO	25
4.6. CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL, TÉRMICA E MECÂNICA.....	26
4.6.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	26
4.6.2 Difração de raios-x	27
4.6.3 Estudo Térmico	27
4.6.4. Determinação das propriedades mecânicas do sorgo sacarino	28
4.7. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA	29

4.7.1. Determinação da Atividade Enzimática	29
4.7.2. Preparo do extrato enzimático utilizado na hidrólise	30
4.7.3. Procedimento da Hidrólise Enzimática	30
4.7.4. Análise da Hidrólise Enzimática	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	34
5.1. CARACTERIZAÇÃO DO SORGO SACARINO	34
5.1.1. Determinação da composição do sorgo sacarino	34
5.1.2. Análise granulométrica do sorgo sacarino <i>in natura</i>	37
5.2. ETAPAS DE PRÉ-TRATAMENTO	39
5.2.1. Pré-tratamento básico do sorgo sacarino com NaOH	39
5.2.1.1 Determinação da composição do sorgo sacarino após etapa de pré-tratamento básico	47
5.2.1.2 Análise granulométrica do sorgo sacarino após pré-tratamento com NaOH	50
5.2.2 Pré-tratamento básico do sorgo sacarino seguido de pré-tratamento ácido..	51
5.2.2.1. Determinação da composição do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido	54
5.2.2.2. Análise granulométrica do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido	56
5.3. CARACTERIZAÇÕES MORFOLÓGICAS , TÉRMICAS E MECÂNICAS	58
5.3.1. Determinação da cristalinidade por difração de raios X (DRX)	58
5.3.2. Análise Morfológica do sorgo sacarino por microscopia eletrônica de varredura (MEV)	60
5.3.3. Caracterização Térmica	65
5.3.4. Propriedades mecânicas	77
5.4. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA	79
6. CONCLUSÕES	89
REFERÊNCIAS	91

1. INTRODUÇÃO

Os resíduos lignocelulósicos são os mais abundantes no mundo podendo ser aproveitados na produção de produtos de interesse mundial tais como: glicose, xilose e etanol de segunda geração. O aproveitamento desses resíduos representa uma atividade econômica importante para países em desenvolvimento como o Brasil, visto que se trata de recursos naturais renováveis e de grande potencial energético, por serem ricos em carboidratos e sua bioconversão tem sido bastante estudada nos últimos anos.

Existe uma demanda crescente pelo desenvolvimento de tecnologias destinadas à geração de energia a partir de fontes renováveis de energia, como o etanol, devido a questões ambientais e ao aumento nos custos do barril de petróleo (LIMA, 2011). No Brasil são cultivados 4,4 milhões de hectares de cana-de-açúcar, correspondente a 5,7% de toda área cultivada no país, aproveitada para produção de etanol, estimando-se uma produção superior aos 22 bilhões de litros de etanol, que torna o Brasil o segundo maior produtor de etanol do mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (KOHLHEPP, 2011).

Devido aos inúmeros reajustes no preço da gasolina, estima-se um aumento no consumo do álcool etílico combustível nos próximos anos, necessitando de um aumento na produção desse combustível. É nesse sentido que se estimula o desenvolvimento de novas tecnologias para produção de etanol, utilizando novas matérias-primas como a biomassa lignocelulósica. Segundo Menon e Raon (2012) a biomassa lignocelulósica é considerada a mais fonte promissora de energia renovável da década.

Os materiais lignocelulósicos são compostos basicamente por celulose, lignina e hemicelulose, contendo outros compostos em menores proporções. A celulose é um polímero que possui moléculas de glicose, açúcar fermentescível, que após o processamento, poderá ser submetido ao processo de fermentação, dando origem ao etanol celulósico. Esta tecnologia ainda é objeto de estudo haja vista que existem limitações a nível de conhecimentos científicos que permitam identificar condições que tornem essa tecnologia economicamente viável (AIE, 2008).

As biomassas vegetais podem representar uma fonte alternativa para produção de etanol. O Brasil é conhecido mundialmente por sua grande capacidade de geração de produtos renováveis, tais como resíduos agrícolas (bagaço da cana-de-açúcar, palha de arroz, palha de trigo, casca de frutas, entre outros), resíduos florestais (madeiras, pó e

restos de serraria) e culturas como o capim-elefante e o salgueiro (GALBE e ZACCHI, 2010).

É nesse contexto que o sorgo sacarino surge como uma nova cultura energética que apresenta alto potencial, por possuir alto rendimento por hectare além de ser uma planta C4 com alta eficiência fotossintética e uma das cultura mais resistentes ao calor e a seca (Li et al., 2010). Além disso, ele tem grande potencial para produção de biocombustíveis em áreas onde a cana-de-açúcar é produzida atualmente, devido ao seu período de colheita mais curto (HAN et al., 2013).

Na produção do etanol, utilizando materiais lignocelulósicos são empregados três etapas: pré-tratamentos visando a remoção da hemicelulose e lignina, hidrólise ácida ou enzimática e fermentação alcoólica por leveduras.

Na produção de etanol celulósico, a presença de lignina e hemicelulose dificultam as etapas de hidrólise e inibem o processo de fermentação de açúcares produzidos, sendo necessários pré-tratamentos para remoção da lignina e hemicelulose. Segundo (SILVERSTEIN et al., 2007) a etapa de pré-tratamento visa remover a lignina e hemicelulose expondo a celulose a digestão enzimática.

O sorgo sacarino surge como uma matéria-prima alternativa para a produção de etanol de segunda geração, por ser uma cultura que pode ser cultivada em regiões semiáridas, baixo ciclo vegetativo e possuir concentrações satisfatórias de açúcares fermentescíveis.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial da utilização do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L.Moench) através da hidrólise enzimática, para produção de açúcares fermentescíveis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar físico-quimicamente o sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado básico e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, quanto à granulometria, alfa-celulose, holocelulose, hemicelulose, lignina, umidade, extrativos, cinzas, DRX, DTG, DSC e MEV.
- Pré-tratar basicamente com NaOH (hidróxido de sódio) o sorgo sacarino seco sem lavar e livre de extrativos, avaliando os efeitos da concentração de NaOH, tempo e temperatura.
- Pré-tratar com H₂SO₄ (ácido sulfúrico) o sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, para avaliar os efeitos da concentração de H₂SO₄, tempo e temperatura.
- Caracterizar mecanicamente o sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado básico e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido para avaliar mudanças nas propriedades mecânicas.
- Hidrolisar enzimaticamente o sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado básico e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, para verificar a influência da carga enzimática, relação massa de substrato/volume de extrato e RPM (agitação solução/sólido).

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Os resíduos lignocelulósicos, ou simplesmente biomassas, são as fontes renováveis de energia mais abundantes encontrados na natureza, sendo compostos por resíduos agroindustriais, madeiras e resíduos urbanos. Esses resíduos têm despertado interesse mundial para a produção de combustíveis denominados de etanol de segunda geração.

Castro e Pereira Júnior (2010), citam que dentre os materiais lignocelulósicos, os materiais agroindustriais se destacam pelo caráter de resíduo, conferido por sua obtenção após o processamento de matérias-primas que apresentam maior valor agregado, e pela vocação natural que o Brasil possui para sua geração.

O termo biomassa se refere, em sua definição mais ampla, a qualquer tipo de matéria orgânica oriunda de fontes vegetais ou animais, ou de seus processos de transformação naturais ou artificiais, existindo sob diferentes formas tais como: biomassa natural, alimentícia, residual ou de cultivos energéticos. Tavares e Santos (2013) citam que a biomassa representa cerca de 14% de todo consumo mundial de energia primária.

As biomassas vegetais são a fonte de carbono mais abundante do planeta, representando, portanto, uma potencial fonte de energia renovável. Há necessidade de agregar valor e de aumentar o leque de possíveis aplicações destes materiais estimulando assim o interesse no desenvolvimento de processos industriais que visem o aproveitamento destes resíduos.

Abrantes (2007) cita que 90% da massa seca total da biomassa vegetal, a maior fonte de compostos orgânicos da biosfera, são os materiais lignocelulósicos e são eles: celulose, hemicelulose e lignina, já Castro e Pereira Júnior (2010) citam que essas frações majoritárias são responsáveis por 97-99% de toda massa seca dos materiais.

A composição destes materiais é bastante variável, pois os constituintes possuem características químicas semelhantes às da madeira e são identificados em diferentes quantidades percentuais, dependendo da espécie e condições de crescimento. A biomassa lignocelulósica é composta de celulose (35-50%), hemicelulose (20-35%), lignina (10-25%), além de pequenas quantidades de outros componentes (extrativos) (5-

20%) (TAMANINI, 2004). A Tabela 1 apresenta a composição química parcial dos principais resíduos lignocelulósicos.

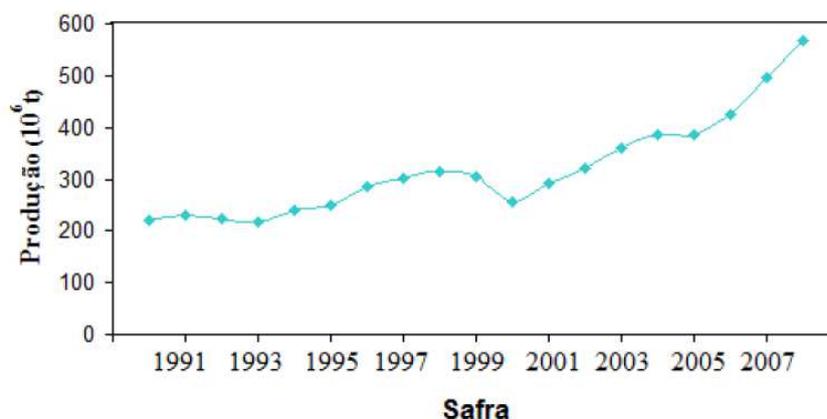
Tabela 1: Composição química parcial dos principais resíduos lignocelulósicos

Resíduos Lignocelulósicos	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)
Palha de cevada	31-45	27-38	14-19
Espiga de milho	45	35	15
Bagaço de cana	32-48	19-24	23-32
Palha de arroz	43,3	26,4	16,3
Palha de trigo	30	50	15
Fibra de Bananeira	60-65	6-8	5-10
Fibra de Coco	36-43	0,15-0,25	41-45
Palha de milho	25 – 41,2	34,5	14,1
Semente de algodão	20	13,1	17,6
Jornal	64,4	21,7	21
Algodão	95	2	0,3
Sorgo sacarino	25-45	19-25	9-32
Sisal	73,1	14,2	11

Fontes: Gomez et al., 2010; Roberts et al., 2011

Perreira Júnior (2007), fez uma estimativa da quantidade de resíduos lignocelulósicos gerados anualmente Brasil e da capacidade de produção de açúcares que a mesma pode gerar. Segundo esse autor a quantidade de resíduos é de aproximadamente 350 milhões de toneladas com de produção de 147 milhões de toneladas de açúcares (sacarose e glicose). Essa produção corresponde a 2,6 vezes a produção do Brasil e dos Estados Unidos por fontes convencionais que não material lignocelulósicos.

A cana-de-açúcar continua sendo a primeira em produção agrícola no Brasil. Na Figura 1 é possível verificar que a produção de cana-de-açúcar vem crescendo no Brasil e nos últimos anos o crescimento tem sido a uma taxa anual de 70 milhões de toneladas (MIRANDA, 2011).

Figura 1 : Processamento de Cana-de-açúcar no Brasil

Fonte: Miranda, 2011

Segundo Teixeira et al., (1997), toda cana-de-açúcar produzida no Brasil é destinada a produção de etanol, sendo que na entressafra que compreende os meses de dezembro a abril que em grandes destilarias é o período para reparos no equipamentos, enquanto que em microdestilarias esse tempo se torna ocioso e se procede o corte antecipado da cana-de-açúcar. Segundo o autor, uma alternativa técnica e economicamente viável é a cultura do sorgo sacarino, além do mais o mesmo produz grãos que podem ser utilizados na alimentação animal.

3.1.1. Celulose

A celulose ($C_6H_{10}O_5$)_n, principal componente da parede celular da fibra vegetal, é um polímero de cadeia longa composto de um só monômero (glicose) e, por isso, classificado como homopolissacarídeo. É a matéria orgânica mais abundante sobre a Terra, consistindo aproximadamente em 50% de toda a biomassa, com uma produção anual de cerca de 100 bilhões de toneladas (YANG et al., 2010). Rueda (2010) afirma que a celulose representa 40% de toda reserva de carbono disponível na biosfera.

A celulose é o componente principal dos materiais lignocelulósicos, é um polímero polissacarídeo linear de celobiose (dissacarídeo de glicose), fortemente ligados pela ligação β 1-4, chamada ligações glicosídicas. 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 de duas regiões uma amorfa e outra cristalina. A cristalinidade da celulose pode ser medida pela

técnica de DRX e quanto maior o índice cristalinidade mais difícil será a biodegradação da celulose (ZENGH et al.,2014).

A celulose total é composta de três tipos distintos de celulose que são: celulose alfa, celulose beta e celulose gama. A celulose alfa é insolúvel em hidróxido de sódio a 17,5% à temperatura ambiente e representa a celulose de alta massa molecular, já a celulose beta e gama são solúveis em solução de hidróxido de sódio a 17,5% à temperatura ambiente, sendo que na celulose beta inclui pequenas quantidade de hemicelulose e celulose degradada e a celulose gama é representada pela maior fração de hemicelulose.

Segundo Ojumu (2003) e Lima (2007), a dificuldade da degradação da celulose por via microbiana e enzimática advém da associação resultante dos diferentes tipos de polímeros e macromoléculas que compõem a matéria vegetal tais como: celulose, hemicelulose e lignina, respectivamente.

No entanto, complexos enzimáticos produzidos por vários micro-organismos têm se demonstrado capazes de catalisar a hidrólise da celulose, em açúcares de baixa massa molecular como a glicose e celobiose tanto cristalina quanto amorfa (MARTINS, 2005).

Pereira et al., (2010) trabalhando com o pseudocaule da bananeira encontrou um percentual de alfa celulose de 64,3%. Oliveira et al. ,(2009) encontrou um percentual de 42,3% de celulose total para o bagaço do sorgo sacarino, já Silva (2009) estudando a palha da cana-de-açúcar encontrou um percentual de 38,1% de celulose total. Dhiman et al., (2015) estudando o salgueiro e a palha do arroz, encontrou percentuais de celulose de 64,3 % e 36,8%, respectivamente. Observa-se que o teor de celulose depende do tipo de material analisado.

3.1.2. Hemicelulose

A hemicelulose é um heteropolímero menor, com grau de polimerização entre 100 e 200 e possui muitas ramificações contendo diferentes carboidratos como a xilose, arabinose, manose, galactose, glicose, assim como ácidos urônicos. Dependendo da predominância do tipo de açúcar as hemiceluloses podem ser chamadas de arabinoxilanas, mananas, glucanas ou galactanas. (STAMBUK et al., 2008).

Em contraste com a celulose as hemiceluloses são mais amorfas, são polissacarídeos heterogêneos aleatórios. As cadeias curtas e ramificadas das hemiceluloses ajudam a construir uma rede com as microfibrilas da celulose e interagem com a lignina, tornando uma matriz extremamente rígida (ZENGH et al.,2014). Por ser altamente amorfa e ramificada as hemicelulose são altamente susceptíveis a ataques biológicos, químicos e térmicos.

A hemicelulose é o segundo mais abundante polissacarídeo no planeta, sendo um dos principais constituintes estruturais da parede celular dos vegetais, tendo função conectora entre as fibrilas de celulose e a lignina, além de conferir maior rigidez à rede estrutural da mesma (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009).

Dhiman et al., (2015) estudando a palha do arroz, encontrou um percentual de hemicelulose de 25,8%, Canilha (2007) encontrou um teor de 27,5% de hemicelulose para o bagaço da cana-de-açúcar e Bernardino (2012) estudando vinte variedades de sorgo sacarino encontrou percentuais variando entre 17 e 24%. Philippini (2012), estudando cinco variedade de bagaço de cana-de-açúcar encontrou valores entre 26,28% e 29,29%.

3.1.3. Lignina

A lignina é a macromolécula orgânica mais importante e abundante dentre os materiais lignocelulósicos, confere rigidez, impermeabilidade, resistência aos ataques de microrganismos e à degradação oxidativa (AGBOR et al.,2011) e Zheng et al., (2014) afirmam que a lignina é o segundo composto orgânico encontrado na natureza.

Stamatelatu et al., (2012) define a lignina como uma grande estrutura composta por aromáticos complexos, heteropolímeros amorfos e hidrofóbicos, e é constituído por fenil proprano (unidades básicas da macromolécula), unidades de álcool coniferílico, álcool sinapílico com radicais hidroxila, metoxi e grupo funcionais carbonila. A lignina desempenha o papel do cimento para formar ligações cross-links (reticulações) entre a celulose e a hemicelulose, formando uma rede tridimensional rígida na parede celular (PALMQVIST e HANH-HAGERDAL, 2000).

Devido as propriedades da lignina, ela se torna o componente mais recalcitrante da parede celular da planta e quanto maior o seu percentual em determinada biomassa vegetal, maior será a resistência da mesma contra ataques químicos e biológicos,

tornando-se o principal obstáculo para a utilização da biomassa lignocelulósica em processos de bioconversão (ZHENG et al., 2014). Agbor et al., (2014), afirmam que a lignina atua como uma cola que une os diferentes compostos lignocelulósicos conferindo uma maior coesão entre eles, aproximando a lignina com as microfibrilas de celulose, sendo considerada a principal barreira física à hidrólise enzimática, causando através de seus derivados toxicidade aos microrganismos, adsorção não específica (irreversível) das enzimas hidrolíticas sobre as ligninas.

Rajarithnam et al., (1992), pesquisando a influência dos micro-organismos em contato com a lignina, observaram que essa macromolécula forma uma barreira física que dificulta a atividade de inúmeros organismos produtores de enzimas celulolíticas, uma vez esses sítios estando inacessíveis limita os sítios ativos de ataques enzimáticos e isso impede a entrada de enzimas de maior massa molar, ou seja, dificulta a difusão mássica dessas proteínas, devido ao reduzido tamanho dos capilares da biomassa, restringindo o ataque à superfície externa.

Devido as propriedades que a biomassa lignocelulósica possui é necessário etapas de pré-tratamento com o objetivo de alterar suas propriedades para melhorar o acesso das enzimas e microrganismos.

Dhiman et al., (2015) estudando o salgueiro e a caule do algodão, encontrou percentuais de lignina de 26,6 % e 15,8%, respectivamente. Garcia et al., (2014) estudando materiais lignocelulósicos encontraram teores de lignina de 18,7% para haste de algodão, 17,3% para hastes de pimenta, 21,9% para a casca de eucalipto, 16,9% para haste de feijão. Philippini (2012), estudando variedades de cana-de-açúcar encontrou teores de lignina variando de 23,9% a 37,8%.

Verifica-se que os teores de lignina são bem relevantes em todas as espécies, fazendo-se necessário a remoção através de pré-tratamentos, para que assim se obtenha melhores rendimentos na etapa da hidrólise.

3.2. SORGO SACARINO

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é uma *Poaceae* originária da África, mais precisamente da Etiópia (Ribas, 2003) e é o quinto cereal mais cultivado no mundo, depois do milho, trigo, arroz e cevada (FAS, 2011).

Figura 2: Planta do sorgo sacarino



Fonte: Cunha, 2010

O nome “Sorgo” tem origem na palavra homônima italiana derivada da palavra latina “*Syricum granum*” cujo significado é “grão da Síria” (BASSAM, 2010). A maioria das variedades cultivadas de sorgo tem sua origem no continente Africano onde foi pela primeira vez domesticada, entre a Etiópia ocidental e o Chade oriental, por volta de 5000 a 7000 anos atrás (BANTILLAN et al., 2004). Essa cultura sido explorada, principalmente, com fins de alimentação animal, humana, e como matéria-prima para a produção de etanol, como também destinada à fabricação de bebidas alcoólicas.

O sorgo pode ser potencialmente a cultura mais versátil do mundo, seus grãos são cozidos como arroz, usados em farelo como mingau de aveia, maltados como cevada para produção de cerveja, cozidos como trigo para produção de pães, álcool industrial, ceras, colas, entre outros (BARCELOS, 2012)

Outra possibilidade vislumbra atender o sistema de produção voltado para agricultura familiar e para cooperativas de produtores baseados em micro e mini destilarias de etanol ou produção de aguardente (Ribeiro Filho et al., 2008). Além de tudo, possui mecanismos de tolerância a seca, podendo ser cultivada na região do semiárido e em regiões fora da zona agrícola da cana-de-açúcar, visando a produção de etanol (Li et al., 2010).

O aproveitamento do sorgo para produção de etanol e de bebidas alcoólicas, se deve ao fato do caule do sorgo ser rico em açúcares fermentescíveis, sendo diminuído a quantidade de açúcares quando a temperatura de cultivo é baixa (SABALLOS, 2008).

A Tabela 2 apresenta um comparativo da composição química do sorgo sacarino e da cana-de-açúcar.

Tabela 2: Composição da planta sorgo sacarino e da cana-de-açúcar

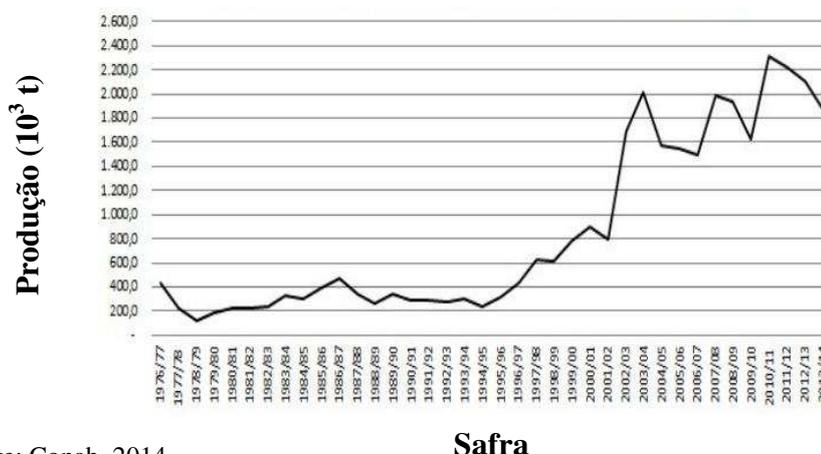
Características	Sorgo Sacarino	Cana-de-Açúcar
Ciclo Vegetativo	120 a 130 dias	12 a 18 meses
Rendimento (t/ha)	48,0	65,0
Umidade (%)	67,9	68,7
Açúcares Redutores(%)	5,6	3,0
Álcool a 100°GL (L/t)	62,4	67,9

Fonte: Teixeira, 1997

Segundo Cunha (2010), o sorgo sacarino vem sendo objeto de estudo para produção de etanol devido à rapidez do ciclo de produção, as facilidades de total mecanização da cultura, o teor relativamente alto de açúcares diretamente fermentáveis contidos no colmo e a versatilidade em termos de fatores climáticos justificam esta posição de destaque em relação à cana de açúcar, podendo então o sorgo sacarino ocupar o espaço de entre safra da cana de açúcar e proporcionar então um período anual completo produzindo matéria prima para o etanol.

A produção mundial de sorgo granífero na safra 2010/2011 foi estimado em cerca de 65 milhões de toneladas, em uma área plantada de aproximadamente 41 milhões de hectares, sendo o Brasil responsável por 2,6% da produção total (USDA, 2011).

O plano Agrícola e Pecuário 2012/2013 contemplou o sorgo sacarino como alternativa complementar a cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração, e o Governo Federal/MAPA (ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) disponibilizou R\$ 270 milhões para este espécie, contudo, o interesse pelo cultivo do sorgo sacarino em áreas de reforma de canaviais, associadas à usinas de grande porte, foi abaixo do esperado, com uma área de plantio estimada em cerca de 10 mil hectares tendo uma produção esperada de 2500 litros de etanol/ha, meta esta que não foi alcançada, tendo uma meta para a safra 2013/2014 uma produção de 3000 litros/ha, (EMBRAPA, 2013). A Figura 3 apresenta a produção de sorgo sacarino no Brasil ao longo dos anos.

Figura 3: Produção anual do sorgo sacarino no Brasil

Fonte: Conab, 2014

Safra

Desta forma, busca-se alternativas de rentabilidade e sustentabilidade para manter altos níveis de produtividade e competitividade no setor sucroalcooleiro, sendo o sorgo sacarino uma alternativa complementar à cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração. Atualmente diversos estudos e pesquisas estão sendo desenvolvidos com o intuito de produzir o etanol celulósico a partir do sorgo sacarino.

As fibras do sorgo sacarino assim como todo material lignocelulósico são recobertas por lignina, possuindo uma camada intermediária de hemicelulose e uma camada interna de celulose, fonte de carboidrato do nosso interesse.

Segundo Roberts et al., (2011) o bagaço do sorgo sacarino é basicamente composto de 27 a 48% de celulose, 19 a 24% de hemicelulose e de 9 a 32% de lignina.

Tamanini e Haully (2004) estudando a palha do sorgo sacarino encontrou percentuais de 34% de celulose, 44% hemicelulose e 20% de lignina. Carroll e Somerville (2009) encontraram percentuais de celulose, lignina e hemicelulose de 34%, 16% e 23%, respectivamente.

3.3. PRÉ-TRATAMENTO DOS MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Métodos de pré-tratamento eficientes são necessários para que na etapa da hidrólise enzimática haja uma produtividade máxima de açúcar, minimizando as perdas (JØRGENSEN et al.,2007).

As estruturas naturais dos materiais lignocelulósicos dificultam o acesso do microrganismo para utilizar esse material na produção de etanol de segunda geração.

Portanto, as tecnologias de sacarificação são um passo crucial para obtenção de açúcares fermentáveis, para produção de etanol.

Sarkar et al., (2012) cita que a etapa de pré-tratamento da biomassa se torna a fase mais importante no processo de produção de etanol de segunda geração. Segundo o autor a etapa de pré-tratamento visa solubilizar e facilitar a separação dos compostos da biomassa vegetal. O processo é complexo devido a natureza cristalina da celulose, à barreira física formada pela lignina ao redor das fibras celulósicas e a presença de complexas interações entre hemicelulose e celulose e entre esses polissacarídeos e a lignina, tornando o processo complexo, pois o mesmo objetiva separar a matriz de lignina, reduzir a cristalinidade da celulose aumentando assim a fração amorfa e solubilizar a hemicelulose, tornando assim o substrato mais acessível as hidrólises biológicas ou químicas.

Vasconcelos (2011), define o processo de polpação como a separação das fibras de materiais lignocelulósicos por ação química, física ou físico-química

Os processos físicos são divididos em fragmentação mecânica, extrusão e irradiação. Na fragmentação mecânica ocorre a redução do tamanho das partículas e da cristalinidade da biomassa, aumentando a área específica e reduzindo o grau de polimerização (SUN e CHENG, 2002). Tendo em consideração o aumento contínuo do custo de energia, é provável que este processo não seja economicamente viável e não remove a lignina (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009).

O processo por extrusão é considerado segundo Alvira et al., (2010) um pré-tratamento novo e promissor, o qual o material é sujeito ao aquecimento, mistura, cisalhamento e compressão simultâneos, resultando em alterações físicas e químicas. Já no processo por irradiação com raios gama, feixe de elétrons e micro-ondas podem melhorar a hidrólise enzimática, mas em geral os pré-tratamento físicos tornam-se inadequados a processos industriais por serem energeticamente intensos (TAHERZADEH e KARIMI, 2008; TOMÁS-PEJÓ et al., 2008) .

Os pré-tratamentos físico-químicos são divididos em explosão a vapor, explosão a vapor com adição de H₂SO₄ (ácido sulfúrico) ou SO₂ (dióxido de enxofre), água líquida superaquecida e explosão de fibras com amoníaco. O pré-tratamento com explosão a vapor é o tratamento físico-químico mais amplamente utilizado na biomassa lignocelulósica, no qual a biomassa é submetida a vapor pressurizado durante períodos

que variam de segundos a vários minutos ocorrendo em seguida a despressurização. Esse método combina ações mecânicas provocado pela despressurização e químicas hidrolisando a hemicelulose, cuja água age com características de um ácido a altas temperaturas, removendo também parte da lignina (PAN et al.,2005). A solubilização da hemicelulose expõe a celulose e aumenta a acessibilidade da enzima.

Os pré-tratamentos químicos são divididos em: pré-tratamentos ácidos ou alcalinos. Os pré-tratamentos com adição de ácido sulfúrico ou dióxido de enxofre permitem diminuir o tempo e a temperatura do processo, aumentam a recuperação de açúcares e reduz a formação de inibidores (JORGENSEN et al.,2007). Já com o método por explosão de fibras por amoníaco, os materiais lignocelulósicos são expostos a amoníaco líquido, e a elevadas temperaturas e pressões, sendo a pressão depois de certo tempo liberada resultando em rápida expansão do gás amoníaco com consequente dilatação e ruptura das fibras (SUN e CHENG, 2002).

O pré-tratamento com ácido tem como objetivo solubilizar a fração da hemicelulose e tornar a celulose mais acessível, podendo ser operado a temperaturas elevadas e baixas concentrações de ácido ou sob baixas temperaturas e elevadas concentrações de ácido, uma das desvantagens das elevadas concentrações de ácido é a corrosão dos equipamento (MOSIER et al., 2005).

Pré-tratamento com ácidos diluídos é um método mais favorável para aplicações industriais, podendo ser aplicado em etapas de pré-tratamentos de materiais lignocelulósicos para posterior etapa de hidrólise ou em um método de hidrólise para produção de açúcares fermentescíveis, com a desvantagem de produção de inibidores como o furfural e o hidroximetilfurfural, afetando o metabolismo do microrganismo no passo da fermentação (SAHA et al., 2005).

No pré-tratamento alcalino algumas bases podem ser utilizadas, dependendo do conteúdo de lignina dos materiais lignocelulósicos (KUMAR et al.,2009). O maior efeito do pré-tratamento alcalino é a remoção da lignina da biomassa, melhorando assim a reatividade dos polissacarídeos remanescentes (MOSIER et al., 2005). O hidróxido de sódio (NaOH), de potássio (KOH), de cálcio (Ca(OH)₂ ou de amônio (NH₄OH) são bases apropriadas para este pré-tratamento, dentre os quais o NaOH é o que tem sido mais estudado (BALAT, 2011). O tratamento da biomassa lignocelulósica com NaOH diluído causa a sua dilatação, conduzindo a um aumento da área de superfície interna, a

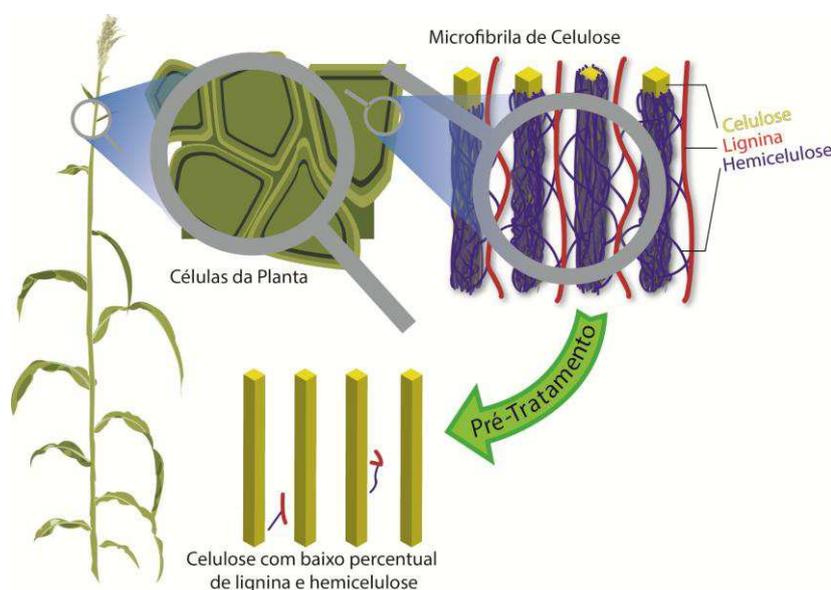
diminuição da cristalinidade, a separação das ligações estruturais entre a lignina e os glicídios e a quebra da estrutura da lignina (BALAT, 2011).

Em alguns casos, o pré-tratamento pode ser conduzido à temperatura ambiente, porém demanda tempos reacionais elevados, da ordem de horas, dias ou semanas, diminuindo a degradação dos açúcares e é bastante eficaz em resíduos agrícolas (KUMAR et al., 2009).

Dos tratamentos acima mencionados o objetivo é o aumento na digestibilidade enzimática da celulose, aumento no rendimento em açúcares fermentescíveis, devido a remoção da hemicelulose e lignina, aumentando a área superficial e diminuindo o grau de polimerização e cristalinidade da celulose, expondo a parte amorfa da celulose ao ataque enzimático.

A Figura 4 apresenta o esquema da desestruturação que sofre a biomassa lignocelulósica durante o pré-tratamento. Neste processo ocorrem alterações na estrutura da parede celular, com significativos aumentos na área superficial da celulose.

Figura 4: Esquema de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica



Fonte: Elaborada pelo Autor (2015)

A lenta degradação da lignina é regida por sua estrutura e pelas características da biomassa, tais como alta cristalinidade da celulose e pela barreira que a lignina forma em volta da celulose dificultando o ataque de enzimas e de ácidos.

Philippini (2012), estudando cinco variedades de cana-de-açúcar conseguiu uma solubilização entre 42 e 45% do bagaço da cana-de-açúcar no pré-tratamento com ácido sulfúrico a 2% (V/V) a uma temperatura de 150 °C por um tempo de 30 minutos, removendo parte da hemicelulose e para o posterior pré-tratamento alcalino com NaOH a 1% a 100 °C por 30 minutos obteve uma solubilização entre 12,45 e 16,57% de lignina, chegando a uma solubilização total das duas etapas entre 55 e 60%, já Canilha (2011) obteve sob as mesmas condições um rendimento de 42,7% e Rocha (2010), utilizando concentrações menores de ácido 1% (m/V), obteve uma solubilização de 35%.

Fuentes (2009), estudando o pré-tratamento alcalino utilizando hidróxido de cálcio a uma razão 0,4 g de cal/g de biomassa bruta a temperatura de 60; 70; 80 e 90 °C e variando o tempo de 24 a 110 horas, obteve uma solubilização máxima 30% do bagaço da cana-de-açúcar no tempo de 108 horas a 90 °C.

Silverstein et al., (2009) estudaram o pré-tratamento com NaOH do caule do algodão resultando em um rendimento de deslignificação de 65,6%, utilizando concentração de NaOH de 2% (m/V), tempo de 90 minutos e temperatura de 121 °C.

Yu et al. (2013) estudando o pré-tratamento do bagaço de cana com hidróxido de sódio, a 0,18% (m/V), temperatura de 110 °C por 60 minutos, conseguiram solubilização de 90,0% de lignina e 38,0% hemicelulose.

Rueda (2010) estudando a deslignificação com NaOH do bagaço de cana-de-açúcar utilizou as temperaturas de 100 a 140 °C e concentrações de NaOH de 1 a 4% (m/V) e um tempo fixo de 60 minutos. Gouveia et al., (2010), estudando a deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar com hidróxido de sódio, utilizou uma temperatura de 100 °C, um tempo de 60 minutos e a concentração de NaOH variando de 1 a 4% (m/V).

3.4. HIDRÓLISE

O uso de enzimas para obtenção de açúcares fermentáveis a partir de materiais lignocelulósicos vem se tornando alvo de estudo e pesquisas, sendo uma rota promissória na produção de etanol celulósico. As enzimas são moléculas proteicas de alta massa molecular que atuam como catalisadores biológicos, podem ser produzidas por uma ampla variedade de fungos e bactérias. Dentre as grandes variedades de

enzimas, destaca-se a celulase que trata da conversão de materiais lignocelulósicos em glicose, sendo estas altamente específicas.

A celulase ocasiona a hidrólise da celulose, gerando celobiose, que por sua vez é transformada em glicose pela ação da β glicosidase, que, pelo processo de fermentação, pode ser convertida em etanol. As celulases são um complexo enzimático formado por três grupo de enzimas que são as exoglucanases, as endoglucanases e betaglicosidases (SUN e CHENG, 2002). As endoglucanases são responsáveis pelo rompimento das intercadeias poliméricas, hidrolisam ligações glicosídicas ao acaso. As exoglucanases clivam as cadeias expostas pelas endoglucanases gerando a celobiose (dissacarídeos) ou celotetrose (tetrassacarídeos), já as betaglicosidases hidrolisam as celobioses e celodextrinas gerando monômeros de glicose (FENGEL E WEGENER, 1989).

Existem basicamente três técnicas para a obtenção de açúcares fermentescíveis provenientes de materiais lignocelulósicos: hidrólise com ácido concentrado, hidrólise com ácidos diluídos e hidrólise enzimática. Existem várias vantagens e desvantagens entre a via química e via enzimática, as quais estão listadas na Tabela 3.

A hidrólise enzimática é realizada sob condições brandas de temperatura e pH, além de não gerar produtos que inibem a fermentação posterior de açúcares (CANILHA et al.,2011). A hidrólise ácida requer elevadas temperaturas e baixo pH, gerando condições agressivas e corrosivas aos equipamentos (TAHERZADEH; KARIMI, 2007).

Tabela 3: Comparação entre hidrólise enzimática e ácida

Parâmetro	Hidrólise Ácida	Hidrólise Enzimática
Pré-Tratamento	Pode ser Necessário	Necessário
Taxa de Hidrólise	Rápida (min)	Lenta (h)
Temperatura	Alta (200 ⁰ C)	Baixa (45 ⁰ C)
Pressão	Alta	Atmosférica
Rendimento	Dependendo do material e dos detalhes do processo	Dependendo do material e dos detalhes do processo
Subprodutos	Provável formação	Não há formação

Fonte: Krishna, 2000

A hidrólise enzimática também tem suas desvantagens quando comparada com a hidrólise ácida. O tempo de hidrólise enzimática é de alguns dias enquanto que por via ácida leva poucos minutos, e o produto final da reação (glicose) provoca inibição das enzimas celulolíticas, enquanto que no processo com ácido ocorre a formação de produtos inibidores como o furfural e o hidroximetilfurfural (TAHERZADEH; KARIMI, 2007).

A hidrólise com ácido concentrado, a hemicelulose e a celulose presentes na biomassa são quebradas utilizando soluções aquosas de ácidos minerais fortes, tais como ácido sulfúrico, clorídrico ou fosfórico. A fração da hemicelulose é hidrolisada mais rapidamente que a celulose, e os monossacarídeos liberados da hemicelulose são expostos no meio reacional por muito tempo, o que leva a degradação e perda desses açúcares (RABELO, 2007).

Segundo Krishna (2000) a hidrólise enzimática é superior como processo em obtenção de açúcares redutores e, conseqüentemente o álcool etílico, em relação a hidrólise ácida, no entanto, à hidrólise enzimática é mais onerosa devido aos custos associados a produção de enzima, e o Brasil ainda não a produz em escala industrial.

Os fatores limitantes que afetam a hidrólise da biomassa têm sido tradicionalmente divididos em dois grupos: as características estruturais da biomassa e o mecanismo enzimático. É importante ressaltar que muitos fatores que integram estes dois grupos estão interligados durante a etapa de hidrólise e, como resultado, a influência de cada fator é difícil de ser quantificada isoladamente. Um exemplo disto é a digestibilidade do substrato pelo sistema enzimático, que é afetada pelo tipo da biomassa, tipo e condição de pré-tratamento e concentração de enzimas na hidrólise (SAAD, 2010).

Santos e Gouveia, (2011) trabalhando com a produção de bioetanol, por meio da hidrólise enzimática a partir do bagaço de cana-de-açúcar, constataram que a presença de lignina na hidrólise do material foi um fator limitante ao acesso das enzimas e, conseqüentemente, a presença de compostos fenólicos provenientes da presença de lignina no hidrolisado, o que desfavoreceu a produção de bioetanol. Por outro lado, a deslignificação aumentou em 10% o rendimento de etanol em relação à glicose e em 96% em relação ao bagaço.

Duff e Murray (2006) descrevem que hidrólise enzimática deve ser conduzida em condições amenas de pH e de temperatura (pH = 4,8 e temperatura = 45-50 °C) e que não produz problemas de corrosão, como observado nas hidrólises com ácidos e/ou com bases. Entretanto, para uma eficiente hidrólise enzimática, é necessário primeiramente submeter o material lignocelulósico a um pré-tratamento para remover a lignina e disponibilizar a celulose ao ataque enzimático.

Oliveira, (2011) trabalhando com palha de cana-de-açúcar, através de pré-tratamento com ácido diluído, seguido de pré-tratamento básico a uma temperatura de 180 °C, proporcionou em 85% a conversão da fração celulósica através de hidrólise enzimática, chegando a uma concentração máxima de glicose de 46,6 g.L⁻¹.

Oliveira, (2011) realizou um pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar a 195 °C por 15 minutos e obteve uma conversão enzimática da celulose em 50%.

Silva (2011) alcançou uma conversão enzimática de 53% quando pré-tratou a palha da cana-de-açúcar com ácido sulfúrico diluído 2% (m/v), a 120 °C por 10 minutos, obtendo 26,9 g.L⁻¹ de glicose.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

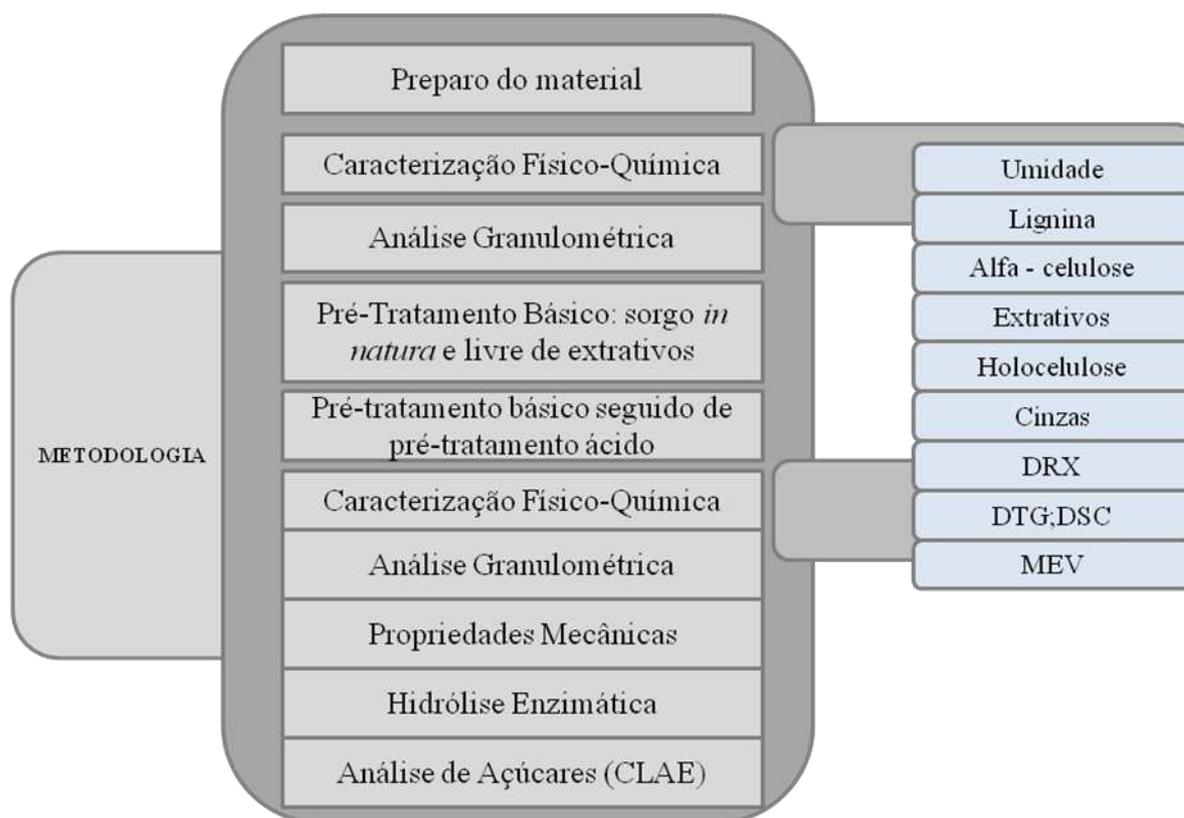
Os experimentos desta pesquisa foram realizados nos Laboratórios de Engenharia Bioquímica (LEB), Transferência de Calor e Massa em Meios Porosos, da Unidade Acadêmica de Engenharia Química, e no Laboratório de Caracterização de Materiais, da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais, todos pertencentes ao CAMPUS I da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

As metodologias utilizadas nos experimentos de caracterização, nas etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática foram as disponíveis nos protocolos para materiais lignocelulósicos usados no LEB, tendo sido adaptadas quando necessário. Já a metodologia utilizada no ensaio para determinação das propriedades mecânicas foi baseada em protocolos usados no laboratório de Engenharia de Materiais.

No LEB e no laboratório de Transferência de Calor e Massa em Meios Porosos, foram realizadas as etapas de preparo do material, caracterização química : umidade, lignina, alfa-celulose, hemicelulose, cinzas, extrativos e holocelulose; análise granulométrica, etapas de pré-tratamento, hidrólise enzimática e análise de açúcares. Já nos laboratórios de Engenharia de Materiais foram realizadas as caracterizações físico-químicas: DRX, DTG, DSC e MEV; e os ensaios de resistência a flexão

A Figura 5 apresenta o fluxograma completo de todos os procedimentos realizados ao longo deste trabalho. Cada etapa apresentada no fluxograma será detalhado nos itens de 4.1 a 4.7.

Figura 5: Fluxograma dos procedimentos para obtenção de açúcares fermentescíveis



Fonte: Elaborada pelo autor (2015)

4.1 PREPARO DO MATERIAL

A biomassa utilizada foi o sorgo sacarino adquirido na região agreste da Paraíba, no município de Boqueirão-PB.

Inicialmente as flores e sementes do sorgo sacarino foram eliminados. Foram utilizados somente as folhas e os colmos, após trituração em forrageira na fazenda Ligeiro localizada na cidade de Campina Grande-PB.

O sorgo sacarino triturado foi submetido ao processo de secagem em uma estufa com circulação de ar a 75 °C, sendo retirada as amostras a cada 8 horas para que se fosse verificado a constância de massa. Após essa etapa os resíduos foram moídos em um moinho de facas TECNAL MARCONI, Mod-TE 340 (Figura 6) do Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB), da Unidade Acadêmica de Engenharia Química.

Figura 6: Moinho de Facas utilizado para trituração do sorgo sacarino



Fonte: Arquivo do Autor

Por fim, todo o material foi homogeneizado, dividido em sacos plásticos do tipo ZIP-PLOT e armazenados em um isopor contendo sílica gel até o momento de serem utilizados nos diversos experimentos.

4.2. ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

A distribuição granulométrica do substrato foi determinada pesando-se 100,00 gramas do substrato em balança analítica, o qual foi transferido para um agitador de peneiras PRODUTEST na frequência 50 RPM durante treze minutos, em jogo constituído por sete peneiras, seguindo as recomendações da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1984): 14 mesh (1,180mm), 20 mesh (0,850 mm), 24 mesh (0,710 mm), 35 mesh (0,425 mm), 42 mesh (0,355 mm), 65 mesh (0,212 mm) e 115 mesh (0,125 mm). O material retido em cada peneira foi pesado e os resultados expressos percentualmente em relação a massa do material original.

O cálculo do diâmetro médio da partícula D foi obtido utilizando a equação de Sauter apresentada por Pereira et al., (2009), de acordo com a equação 1:

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

Onde:

Δx_i : Fração mássica retida sobre cada peneira;

D_i : Diâmetro médio de abertura das peneiras superior e inferior

4.3. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

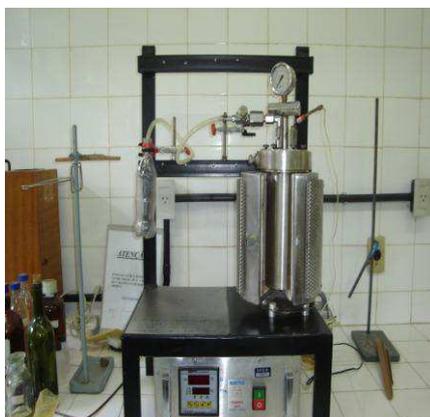
Os experimentos realizados para a caracterização química do sorgo sacarino *in natura* foram realizados em triplicata. Foram realizadas as seguintes análises: Umidade, alfa-celulose, hemicelulose, holocelulose, lignina, extrativos, e cinzas. As metodologias utilizadas basearam-se nos procedimentos para análise de material lignocelulósico, documento 236 EMBRAPA (MORAIS et al., 2010) . As mesmas caracterizações foram realizadas para o sorgo sacarino após passar por pré-tratamento básico e para o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento com ácido sulfúrico.

Todo o processo de pré-tratamento básico do sorgo sacarino e do pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido serão descritos nos itens 4.4 e 4.5, respectivamente.

4.4. PRÉ-TRATAMENTO BÁSICO

No processo de pré-tratamento básico foi utilizado NaOH (hidróxido de sódio), sendo o mesmo realizado em um reator pressurizado da marca Parr (Figura 7) com controle de temperatura MAITEC modelo FE50RO, com capacidade de 750 mL.

Figura 7: Reator Parr, utilizado nas etapas de pré-tratamento.



Fonte: Arquivo do autor (2011)

Para o estudo do pré-tratamento foi realizado um planejamento fatorial do tipo 2^3 com três repetições no ponto central, totalizando onze ensaios. Para cada ensaio foram utilizados 5g da amostra e 50 mL de solução de NaOH, ou seja, uma relação de 1:10 (m/v). Durante o processo de pré-tratamento, as concentrações de NaOH variaram

de 1 a 4% (m/V) , as temperaturas de 100 a 140 °C e o tempo de 60 a 120 minutos. A taxa de aquecimento do reator foi fixada em 25 °C por minuto.

Foi realizado também um pré-tratamento do material livre de extrativos, para que se pudesse comparar o rendimento de pré-tratamento, verificando assim se durante o processo de deslignificação com NaOH houve ou não remoção de extrativos.

A matriz do planejamento é apresentada na Tabela 4, os valores escolhidos para o planejamento experimental foram escolhidos de acordo com a literatura

Tabela 4: Matriz de planejamento fatorial $2^3 + 3$ repetições no ponto central para o processo de pré-tratamento

Experimentos	Temperatura (T °C)	Tempo (min)	Concentração% (m/V)
1	100(-1)	60(-1)	1,0(-1)
2	140(+1)	60(-1)	1,0(-1)
3	100(-1)	120(+1)	1,0(-1)
4	140(+1)	120(+1)	1,0(-1)
5	100(-1)	60(-1)	4,0(+1)
6	140(+1)	60(-1)	4,0(+1)
7	100(-1)	120(+1)	4,0(+1)
8	140(+1)	120(+1)	4,0(+1)
9	120(0)	90(0)	2,5(0)
10	120(0)	90(0)	2,5(0)
11	120(0)	90(0)	2,5(0)

Para o cálculo do rendimento da etapa de pré-tratamento, foi pesado inicialmente a massa de sorgo sacarino colocada no reator, e por fim a massa final depois de ocorrido o processo, sendo a mesma seca em estufa a 105 °C por 24 horas. O cálculo do rendimento foi realizado de acordo com a equação 2:

$$\% \text{ Ren} = \frac{m_s}{m_i} \quad (2)$$

Onde:

% Ren – Rendimento;

m_s – massa seca do bagaço;

m_i – massa inicial da amostra

A regressão dos dados experimentais foi realizada utilizando-se Software STATISTICA™ 5.0 .

Após realizada a etapa de pré-tratamento básico, foi verificado qual a condição que se obteve o melhor rendimento para se preparar material em quantidade suficiente para realização das etapas de caracterização química, análise granulométrica, caracterizações morfológicas, térmicas e mecânicas, assim como realização da hidrólise enzimática.

4.5. PRÉ-TRATAMENTO BÁSICO SEGUIDO DE PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO

Após realizado a etapa de pré-tratamento com NaOH, conforme descrito no item 4.4, foi realizado o pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído. O procedimento foi realizado no reator pressurizado utilizado na etapa de pré-tratamento com NaOH, descrito no item 4.4.

Para o estudo do pré-tratamento ácido foi utilizado um planejamento fatorial do tipo 2^3 com três repetições no ponto central, totalizando onze ensaios. Para cada ensaio foram utilizados 5g do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e 50 mL de solução de H_2SO_4 , ou seja, uma relação de 1:10 (m/V). Durante o processo de pré-tratamento, as concentrações de H_2SO_4 foram variadas de 1 a 4% (V/V), as temperaturas de 100 a 140 °C e o tempo de 60 a 120 minutos. A taxa de aquecimento do reator foi fixada em 25°C por minuto.

A matriz do planejamento é apresentada na Tabela 5, os valores escolhidos para o planejamento experimental foram escolhidos de acordo com a literatura.

Tabela 5: Matriz de planejamento fatorial $2^3 + 3$ repetições no ponto central para o processo de pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido

Experimentos	Temperatura (T °C)	Tempo (min)	Concentração % (m/V)
1	100(-1)	60(-1)	1,0(-1)
2	140(+1)	60(-1)	1,0(-1)
3	100(-1)	120(+1)	1,0(-1)
4	140(+1)	120(+1)	1,0(-1)
5	100(-1)	60(-1)	4,0(+1)
6	140(+1)	60(-1)	4,0(+1)
7	100(-1)	120(+1)	4,0(+1)
8	140(+1)	120(+1)	4,0(+1)
9	120(0)	90(0)	2,5(0)
10	120(0)	90(0)	2,5(0)
11	120(0)	90(0)	2,5(0)

Para o cálculo do rendimento do pré-tratamento ácido, foi pesado inicialmente a massa de sorgo sacarino colocada no reator, e por fim a massa final depois de ocorrido o processo, sendo a mesma seca em estufa a 105 °C por 24 horas. O cálculo do rendimento foi realizado de acordo com a equação 3, apresentada no item 4.4.

A regressão dos dados experimentais foi realizada utilizando-se o Software STATISTICA™ 5.0.

Após realizado o processo de pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido, foi verificado qual a condição que se obteve o melhor rendimento para se preparar material em quantidade suficiente para realização das etapas de caracterização química, análise granulométrica, caracterizações morfológicas, térmicas e mecânicas, assim como realização da hidrólise enzimática.

4.6. CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL, TÉRMICA E MECÂNICA

4.6.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para caracterizar morfológicamente o sorgo sacarino *in natura* e após as etapas de pré-tratamento, observando visualmente a remoção de lignina, hemicelulose e outros componentes que envolviam o material.

Inicialmente, as amostras do sorgo sacarino foram fixadas com fita adesiva de carbono dupla face condutora convencional em suporte de alumínio (stubs). Em seguida as mesmas foram metalizadas com uma liga de ouro/paládio de 10 nm em metalizador Quick Coater SC-701 (Sanyu Electron, Tóquio, Japão). As amostras ficaram mantidas em dessecador até o momento da análise. As microfotografias de MEV foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura (Superscan SSX-550, Shimadzu) com detector OXFORD (elétron secundário), a uma potência do feixe de elétrons de 20 kV.

O microscópio eletrônico de varredura pertence a Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – Laboratório de Caracterização Microestrutural II/UAEM/UFCG), e utiliza o software LEO, versão 3.01. As amostras foram dispostas de forma que fosse possível observar as modificações superficiais das fibras dos materiais.

As microscopias eletrônicas de varredura foram realizadas com ampliação de faixa de 50 a 1.000 vezes.

4.6.2 Difração de raios-x

A técnica de difração de Raios-X foi utilizada para análise da cristalinidade do sorgo sacarino *in natura* e após as etapas de pré-tratamentos. As análises de DRX foram realizadas em um aparelho da marca Shimadzu modelo XRD-6000, do Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais CCT/UFCG, utilizando-se radiação $K\alpha$ do cobre, tensão de 40,0KV, corrente de 30mA, varredura de 2 a 50° e velocidade de varredura de 2 °/min. A amostra foi colocada em um cadinho de alumina suspenso ao braço da balança por um fio de platina, permanecendo ali até que toda a massa sofresse oxidação.

Os índices de cristalinidade do sorgo sacarino *in natura*, e após passarem pelas etapas de pré-tratamentos foram calculados de acordo com a equação 3 (THYGESSEN et al., 2005):

$$I_c = \frac{(I_{002} - I_{am})}{I_{002}} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

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 ($2\theta=19,0^\circ$).

4.6.3 Estudo Térmico

As análises termogravimétricas, análise térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial, fornecem informações características sobre o comportamento térmico de materiais diante de um aumento progressivo de temperatura quando comparado com uma amostra padrão inerte a altas temperaturas.

As análises térmicas foram realizadas para o sorgo *in natura* e após ter passado pelos processos de pré-tratamento. Foi utilizado um sistema de análises térmicas simultâneo SDT TA Instruments, pertencente ao Laboratório de Engenharia de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais CCT/UFCG, utilizando uma razão de aquecimento de 10,0 °C/min sob atmosfera de nitrogênio (N_2). A temperatura máxima foi de 1000 °C em cadinho de alumina.

Para o sorgo sacarino *in natura* foi utilizado uma massa inicial de 5,0990 mg, para o sorgo pré-tratado básico e pré-tratado básico livre de extrativos as massa iniciais foram de 4,1860 mg e 4,9570 mg, respectivamente, e para o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido a massa inicial foi de 4,0010 mg.

4.6.4. Determinação das propriedades mecânicas do sorgo sacarino

O processo de determinação das propriedades mecânicas do sorgo sacarino *in natura*, e após ter passado pelas etapas de pré-tratamento foi realizado utilizando moldes de aço com dimensões de 50 x 20 mm e pressão de conformação dos corpos-de-prova de 6 toneladas força, sendo o mesmo realizado em triplicata. Para cada corpo-de-prova conformado foi utilizado uma razão de 1:1 (m/m) de massa do sorgo sacarino e ácido bórico (H_3BO_3), sendo o ácido bórico utilizado como ligante.

Após a conformação dos corpos-de-prova, os mesmos foram submetidos ao ensaio de flexão simples utilizando o equipamento AUTOGRAF AG-X 50KN da SHIMADZU (Figura 8), cujas condições de realização do ensaio foram distância entre os apoios de 25 mm e deslocamento da célula de 0,5 mm/min.

Figura 8: Equipamento AUTOGRAF AG-X 50KN da SHIMADZU para realização do ensaio de flexão



Fonte: Própria do autor (2015)

Após o rompimento dos corpos-de-prova foram gerados gráficos de Força (N) versus deslocamento (mm) e a partir dos gráficos e com auxílio da regra do trapézio foram determinados as seguintes propriedades mecânicas: resiliência, deformação, carga máxima, tensão máxima e módulo de resistência a flexão, do sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado básico e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido.

Os módulos de resistência a flexão do sorgo sacarino *in natura* e após passar pelas etapas de pré-tratamento foram calculados de acordo com a equação 4:

$$MRF = \frac{3PL}{2bd^2} \quad (4)$$

Onde:

MRF: módulo de resistência à flexão (MPa)

P: carga (N)

L: distância entre os apoios (mm)

b: largura do corpo-prova (mm)

d: espessura do corpo-de-prova (mm)

Após a realização do ensaio de resistência a flexão simples foi possível verificar se a mudança na cristalinidade do sorgo sacarino após ter passado pelas etapas de pré-tratamento, modificou as propriedades mecânicas do mesmo.

4.7. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

4.7.1. Determinação da Atividade Enzimática

A determinação da atividade enzimática foi baseada na metodologia proposta por Ghose (1987), que mede a atividade celulolítica em termos de unidades de papel de filtro por mililitro da solução enzimática original. Os tubos de ensaios continham 50 mg do substrato (Papel de filtro quantitativo de 80 g.m⁻²; cinza 0,00005 g; permeabilidade ao ar: 3 L.s⁻¹m⁻² e porosidade da maioria dos poros de 8 µm), 1 mL do tampão citrato de sódio (50 m mol.L⁻¹, pH = 4,8) e 0,5 mL da enzima diluída. Os tubos controles da enzima não continham o substrato e o tubo controle do substrato não continham a enzima. Os tubos padrões de glicose continham 0,5 mL da diluição de glicose e 1 mL do tampão. Os tubos foram incubados em banho termostático a 50 °C por 60 minutos.

Após o período de incubação, foram adicionados 3 mL do ácido dinitrossalicílico (DNSA) para interromper a reação enzimática. Para dosagem dos açúcares redutores totais os tubos foram colocados exatamente por 5 minutos em banho de água fervente. A leitura da absorbância da amostra foi realizada em um espectrofotômetro UV-Vis em comprimento de onda 540 nm. Usando uma curva de calibração feita com glicose foi possível determinar a concentração de glicose liberada em cada reação enzimática. A atividade da enzima foi estimada em exatamente 2 mg de glicose liberada durante a reação enzimática (definição de Filter Paper Unity - FPU), através da equação da reta da curva de calibração entre as concentrações de glicose após cada reação e os logaritmos das respectivas diluições da enzima.

4.7.2. Preparo do extrato enzimático utilizado na hidrólise

A preparação enzimática empregada para a sacarificação do sorgo sacarino foi composta por 50 mL da enzima Celluclast 1.5 L da Novozyme avolumados a 500 mL em balão volumétrico com tampão citrato de sódio 50 m mol.L⁻¹, pH 4,8.

4.7.3. Procedimento da Hidrólise Enzimática

Na hidrólise enzimática do sorgo sacarino foram realizados ensaios com auxílio de um planejamento experimental 2³ + 3 repetições no ponto central, para estudar a influência da carga enzimática (FPU.g⁻¹), da relação massa seca do sorgo/extrato enzimático (g. mL⁻¹) e a RPM (rotações por minuto) do shaker, na quantidade de açúcares fermentescíveis produzidos, ou seja, a variável dependente.

A Tabela 6 apresenta a matriz utilizada para o estudo da hidrólise enzimática do sorgo sacarino, variando os de volume de extrato enzimático, de tampão citrato de sódio e da tetraciclina, antibiótico utilizado na hidrólise.

Tabela 6: Matriz da hidrólise enzimática do sorgo sacarino

Exp	Massa do sorgo sacarino (g)	Vol de extrato (mL)	Vol Total (mL)	Vol do tampão (mL)	Tetraciclina (mL)
1	3,00	3,00	150,00	147,00	0,6
2	3,00	7,50	150,00	142,50	0,6
3	3,00	3,00	75,00	72,00	0,3
4	3,00	7,50	75,00	67,50	0,3
5	3,00	3,00	150,00	147,00	0,6
6	3,00	7,50	150,00	142,50	0,6
7	3,00	3,00	75,00	72,00	0,3
8	3,00	7,50	75,00	67,50	0,3
9	3,00	5,25	100,00	94,75	0,4
10	3,00	5,25	100,00	94,75	0,4
11	3,00	5,25	100,00	94,75	0,4

Foram utilizados erlenmeyers de 250 mL contendo o sorgo sacarino *in natura* e pré-tratado com NaOH, o extrato enzimático, a solução tampão de citrato de sódio (pH 4,8), a β -glicosidase e o antibiótico tetraciclina nas condições do planejamento experimental. Todo o conjunto foi mantido a temperatura de 55 °C por um tempo de 84 horas na incubadora Shaker (modelo SL-223), conforme Figura 9.

Figura 9: Incubadora Shaker

Fonte: Própria do autor (2015)

Em cada erlenmeyer foram coletadas amostras de 0,5 mL em tempos pré-determinados, cujas foram diluídas para 12,5 mL de água destilada, acompanhando assim a cinética da hidrólise enzimática, obtendo as melhores condições para um maior rendimento em produção de glicose. A Tabela 7 apresenta a matriz do planejamento experimental completo.

Tabela 7: Matriz do planejamento experimental 2^3 para a hidrólise enzimática do sorgo sacarino

Exp	Carga enzimática (FPU/g)	Relação massa do sorgo sacarino/volume de extrato (g/mL)	RPM
1	10(-1)	2(-1)	100(-1)
2	25(+1)	2(-1)	100(-1)
3	10(-1)	4(+1)	100(-1)
4	25(+1)	4(+1)	100(-1)
5	10(-1)	2(-1)	200(+1)
6	25(+1)	2(-1)	200(+1)
7	10(-1)	4(+1)	200(+1)
8	25(+1)	4(+1)	200(+1)
9	17,5(0)	3(0)	150(0)
10	17,5(0)	3(0)	150(0)
11	17,5(0)	3(0)	150(0)

4.7.4. Análise da Hidrólise Enzimática

As análises das hidrólises enzimáticas, para determinação dos teores de açúcares fermentescíveis, foram determinados através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) equipado com uma bomba modelo ProStar 210 Varian, injetor manual com loop de 20 μ L, detector de índice de refração modelo ProStar 356 Varian para açúcares, coluna analítica de aço inox Hi-Plex H (30 cm x 7,7 mm Varian), conforme Figura 10.

As condições da operação foram: temperatura da coluna de 60 °C; fase móvel: água miliQ com vazão de 0,6 mL/min; tempo de análise: de 60 minutos para teores de açúcares e aldeídos, respectivamente. Soluções padrões interno de açúcares: glicose,

xilose, arabinose e sacarose (Sigma 99,99% grau CLAE), foram utilizadas para quantificação dos componentes do licor (Figura 10).

Figura 10: CLAE (Cromatógrafo líquido de alta eficiência), para quantificação de açúcares fermentescíveis



Fonte: Próprio do autor (2015)

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. CARACTERIZAÇÃO DO SORGO SACARINO

5.1.1. Determinação da composição do sorgo sacarino

O sorgo sacarino foi caracterizado *in natura* e após as etapas de pré-tratamentos.

As etapas de pré-tratamento e as caracterizações pós pré-tratamento serão apresentados nos itens 5.2 e 5.3.

A Tabela 8 apresenta os valores dos parâmetros analisados do sorgo sacarino *in natura*, seco e moído, assim como seus respectivos desvios padrão, todos expressos em base seca.

Tabela 8: Caracterização química do sorgo sacarino *in natura* expresso em valores percentuais (%)

Parâmetros Analisados	Sorgo sacarino <i>in natura</i>
Umidade	6,44 ± 0,13
Cinzas	5,76± 0,22
Lignina	15,49±0,49
Holocelulose	61,61±0,32
Alfa Celulose	32,75±1,5
Hemicelulose	28,86±1,53
Extrativos	18,06±0,33

Analisando os dados da Tabela 8, o percentual de umidade encontrado para o sorgo sacarino *in natura* foi de 6,44%, valor semelhante ao encontrado por Oliveira (2009) que foi 7,44% , estudando o bagaço do sorgo sacarino para produção de bioetanol. Barcelos (2012), estudando o aproveitamento dos grãos de sorgo para

produção de bioetanol encontrou um teor de umidade de 14,03%, valor esse bem acima ao encontrado nesse trabalho.

O teor de cinzas encontrado neste trabalho para o sorgo sacarino *in natura* foi de 5,76%, percentual este correspondente aos compostos minerais da biomassa lignocelulósica. Pesce (2000) analisando variedades de sorgo sacarino, encontrou teores de cinzas variando entre 3,4 e 4,5 %, valores próximos ao encontrado neste trabalho, já Miranda (2011) encontrou um percentual de 9,5%, valor bem acima do encontrado nesse trabalho, isto podendo ter ocorrido ao período de colheita e a variedade de sorgo sacarino em estudo.

Panagiatopoulos (2010), encontrou um teor de 3,7 % de cinzas para o bagaço do sorgo sacarino, já Barcelos (2012) encontrou um teor de 1,15% e Oliveira (2009) encontrou um percentuais de 1,8% para o bagaço do sorgo sacarino lavado e de 1,6% para o bagaço *in natura*, valores bem inferiores ao encontrado neste trabalho.

Para lignina o percentual encontrado neste trabalho para o sorgo sacarino *in natura* foi de 15,49 %. Oliveira (2009), estudando o bagaço do sorgo sacarino para a produção de bioetanol, encontrou um percentual de lignina de 16,54% valor muito próximo ao encontrado nesse trabalho. Domingos et al., (2000) analisando genótipos de sorgo de portes médio e alto encontrou uma média de 12,65% de lignina, percentual bem próximo ao encontrado neste trabalho.

Santos (2007), encontrou um percentual de lignina de 11,90% para o sorgo sacarino doce, valor semelhante ao encontrado nesse trabalho, já Santos (2007), encontrou um percentual de lignina de 11,90% para o sorgo sacarino doce, valor semelhante ao encontrado nesse trabalho.

Pires et al., (2004) encontraram 15,5 % de lignina para o bagaço da cana-de-açúcar, Philippini (2012) estudando variedades de bagaços de cana-de-açúcar encontrou um percentual médio de 30,0% de lignina. Bernardino et al., (2012) encontraram percentuais de lignina em torno de 6,47% para a flor (florescimento), ao estudar cultivares de sorgo sacarino.

O cenário nacional mostra que todo o etanol celulósico produzido no Brasil é oriundo do bagaço de cana-de-açúcar, o sorgo sacarino estudado neste trabalho se torna uma alternativa viável para produção de etanol de segunda geração, uma vez que a caracterização química revela que o mesmo apresenta percentuais iguais ou inferiores

de lignina quando comparados com o bagaço da cana-de-açúcar, sendo a lignina uma barreira que impede o ataque enzimático a fonte de carboidratos de nosso interesse que é a celulose.

O percentual de alfa-celulose encontrada neste trabalho para o sorgo *sacarina in natura* foi de 32,75%, correspondendo a fonte de carboidratos de interesse para produção de etanol celulósico. Pereira et al.,(2010) estudando a extração de nanocelulose de fibras vegetais encontraram um percentual de 64,33% de alfa-celulose para o pseudocaule da bananeira.

Oliveira (2009) encontrou um percentual de 42,3% de celulose total para o bagaço do sorgo *sacarina in natura*, valor este superior ao encontrado neste trabalho, sendo que o percentual de celulose total envolve frações de celulosas alfa, beta e gama, além de conter frações de hemicelulose. Silva (2009) encontrou um percentual de celulose total de 38,1% para a palha da cana-de-açúcar.

Philippini (2012) encontrou um média percentual de 40,0% de celulose total ao estudar variedades de cana-de-açúcar, já Pacheco et al., (2012) também encontraram teores de 40,0% de celulose total sendo que estudando o bagaço do sorgo *sacarina in natura*. Leão (2014) estudando a fibra do sisal encontrou um percentual de alfa-celulose de 58,40%.

Com relação ao percentual de alfa-celulose o material em estudo também apresenta percentual favorável a produção do etanol celulósico, visto que apresentou um percentual de 32,75%, valor semelhante ao encontrado pelo bagaço da cana-de-açúcar estudado por diversos autores.

O percentual de hemicelulose encontrado neste trabalho para o sorgo *sacarina in natura*, foi de 28,86%. Bernardino (2012), estudando variedades de sorgo *sacarina* encontrou uma variação entre 17 e 24% de hemicelulose.

Canilha (2007) encontrou um percentual de 27,50% de hemicelulose ao estudar o bagaço da cana-de-açúcar, valor este bem próximo ao encontrado neste trabalho.

Philippini (2012), estudando variedades de bagaço de cana-de-açúcar encontrou um percentual de hemicelulose variando entre 23 e 26% valor próximo ao encontrado neste trabalho e Castro et al., (2008), encontrou um percentual de hemicelulose de 24,88% para o bagaço de cana-de-açúcar extraído com água, 27,29% extraído com etanol e 26,84% extraído com água-etanol.

O teor de extrativos do sorgo sacarino *in natura* estudado neste trabalho extraído com ciclohexano-etanol na proporção de 1:1(V/V) foi de 18,06%, correspondendo as frações de óleos, ceras e gorduras presente na biomassa lignocelulósica.

Panagiotopoulos (2010), encontrou um percentual de extrativos para o bagaço do sorgo sacarino de 13,7%, valor próximo ao encontrado neste trabalho.

Phippini (2012) encontrou percentuais de extrativos variando entre 9 e 10% para variedades de cana-de-açúcar extraídos com água seguido de etanol.

Castro et al., (2008 b), encontraram valores de 4,10% para o bagaço da cana-de-açúcar extraído com etanol a 95% e de 6,13% para o bagaço da cana-de-açúcar extraído com ciclohexano-etanol na proporção de 2:1 (V/V), evidenciando que dependendo do solvente utilizado na quantificação de extrativos seu percentual pode variar.

Barcelos (2012), estudando a produção de bioetanol a partir das frações sacarínea, amilácea e lignocelulósica do sorgo sacarino, encontrou um percentual de extrativos de 42,04% extraídos com água seguido de etanol, valor esse bem superior ao encontrado nesse trabalho, já para o bagaço seguido de várias lavagens com água o teor de extrativos foi reduzido para 4,49%.

Panagiotopoulos (2010), encontrou um percentual de extrativos para o bagaço do sorgo sacarino de 13,7%, valor próximo ao encontrado neste trabalho.

O percentual de holocelulose encontrado neste trabalho para o sorgo sacarino *in natura* foi de 61,61%. Miranda (2011), estudando a pirólise do bagaço do sorgo sacarino, encontrou um teor de holocelulose de 65%, valor bem próximo ao encontrado neste trabalho. Marabezi (2009), estudando as reações envolvidas na determinação dos teores de lignina e holocelulose do bagaço e da palha da cana-de-açúcar, obteve aproximadamente 75% de holocelulose para o bagaço da cana-de-açúcar e de 72% para a palha da cana-de-açúcar.

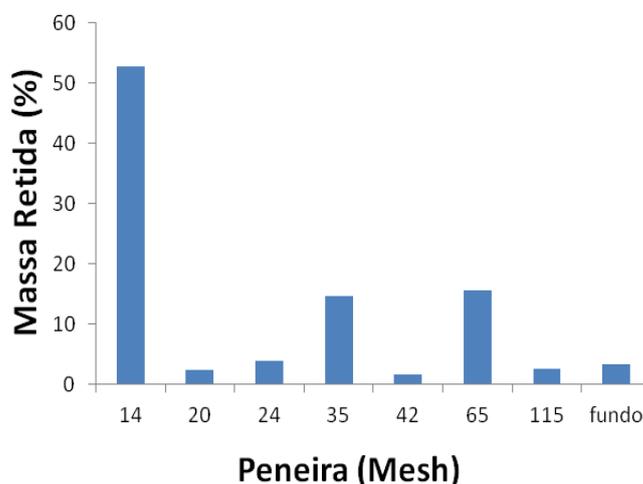
5.1.2. Análise granulométrica do sorgo sacarino *in natura*

Após a moagem, foram coletadas amostradas para se avaliar a estrutura física do substrato, quanto ao tamanho de partículas, no qual determinam a área superficial acessível: ao solvente ou solução utilizado no processo de pré-tratamento, assim como na etapa de hidrólise, pois uma maior área superficial determina uma maior área de contato.

O diâmetro de Sauter encontrado para o sorgo sacarino *in natura* foi de 0,68 mm, valor semelhante ao encontrado por Barcelos (2012), que encontrou para o bagaço do sorgo um diâmetro de Sauter de 0,7 mm, valor bem próximo ao encontrado neste trabalho.

A Figura 11 apresenta a distribuição granulométrica para o sorgo sacarino *in natura* estudado nesse trabalho.

Figura 11: Distribuição granulométrica do sorgo sacarino *in natura*



Observa-se através da Figura 11 que a maior concentração de partículas ficou retida na peneira de mesh 14 (1,2 mm), seguido de um maior percentual de partículas retidas nas peneira com mesh 35 (0,50 mm) e 65 (0,212 mm).

Observando o comportamento gráfico presente na Figura 11, verifica-se que o mesmo está fugindo do comportamento de uma gaussiana, fato este podendo ser explicado pela grande quantidade de partículas nas formas de lamelas e bastonetes, ficando assim grande quantidade retida na peneira #14.

Campos (2011), estudando o bagaço do pedúnculo do caju para produção de bioetanol, encontrou através da análise granulométrica uma distribuição de partículas com comportamento gaussiano, com os maiores percentuais de partículas retidas nas peneiras #20, #24 e #35, chegando a quase 90% de partículas retidas nessas peneiras.

5.2. ETAPAS DE PRÉ-TRATAMENTO

5.2.1. Pré-tratamento básico do sorgo sacarino com NaOH

O processo de pré-tratamento com NaOH foi realizado visando remoção da lignina e/ou hemicelulose presente no sorgo sacarino *in natura* e no sorgo sacarino livre de extrativos e foi realizado conforme as metodologias descritas no item 4.4. Foi realizado o pré-tratamento do sorgo sacarino livre de extrativos para verificar se os extrativos influenciam no rendimento do processo de pré-tratamento, ou seja, se os mesmos são ou não solúveis em solução alcalina.

As Tabelas 9 e 11 apresentam os valores com os rendimentos obtidos no pré-tratamento para o sorgo sacarino *in natura* e para o sorgo sacarino livre de extrativos, respectivamente, e com o software STATISTICA™ 5.0 realizou-se a análise dos dados obtidos do planejamento experimental.

Tabela 9: Rendimento da etapa de pré-tratamento básico do sorgo sacarino *in natura*

Experimentos	Temperatura (°C)	Concentração % (m/V)	Tempo(min)	Rendimento (%)
1	100(-1)	1(-1)	60(-1)	39,95
2	140(+1)	1(-1)	60(-1)	40,26
3	100(-1)	1(-1)	120(+1)	39,96
4	140(+1)	1(-1)	120(+1)	41,68
5	100(-1)	4(+1)	60(-1)	49,72
6	140(+)	4(+1)	60(-1)	53,83
7	100(-1)	4(+1)	120(+1)	51,13
8	140(+1)	4(+1)	120(+1)	57,62
9	120(0)	2,5(0)	90(0)	44,81
10	120(0)	2,5(0)	90(0)	44,21
11	120(0)	2,5(0)	90(0)	44,22

Os resultados apresentados na Tabela 9 indicam uma maior solubilização no processo de pré-tratamento para o experimento oito, cuja temperatura do processo é de 140 °C, concentração de NaOH de 4% (m/V) e tempo de 120 minutos, chegando a um rendimento de 57,62%. Já para a temperatura de 100 °C, concentração de NaOH de 1%

(m/V) e tempo de 60 minutos obtive-se uma menor solubilização dos componentes presentes na biomassa em estudo, chegando a 39,95%.

Philippini (2012), estudando variedades de cana-de-açúcar conseguiu uma solubilização entre 42 e 45% do bagaço da cana-de-açúcar no pré-tratamento com ácido sulfúrico a 2% (V/V) a uma temperatura de 150 °C por um tempo de 30 minutos, removendo parte da hemicelulose e para o posterior pré-tratamento alcalino com NaOH a 1% a 100 °C por 30 minutos obteve uma solubilização entre 12,45 e 16,57%, chegando a uma solubilização total das duas etapas entre 55 e 60%. Canilha (2011) obteve sob as mesmas condições um rendimento de 42,7% e Rocha (2011), utilizando concentrações menores de ácido 1% (m/V), obteve uma solubilização de 35%, ambos estudando o bagaço da cana-de-açúcar.

Fuentes (2009), estudando o pré-tratamento alcalino utilizando hidróxido de cálcio a uma razão 0,4 g de cal/g de biomassa bruta a temperatura de 60; 70; 80 e 90 °C e variando o tempo de 24 a 110 horas, obteve uma solubilização máxima 30% do bagaço da cana-de-açúcar no tempo de 108 horas a 90 °C.

Rendimentos maiores encontrados por outros autores na literatura, são obtidos quando são combinados um pré-tratamento ácido para remoção da hemicelulose, com um posterior tratamento alcalino para solubilização da lignina.

A Tabela 10 apresenta a análise de variância para o modelo completo, para a etapa de pré-tratamento básico do sorgo sacarino *in natura*.

Tabela 10: Análise da variância (ANOVA) para o pré-tratamento básico

Fonte de variação	G.L	Soma quadrática	Média quadrática	F _{cal}	F _{tab}
Regressão	6	356,4760	59,41266	19,09895	6,16
Resíduo	4	12,4431	3,110781		
Falta de ajuste	2	12,2071	6,103528		
Erro puro	2	0,2361	0,118033		
Total	10	368,9191			

O teste F apresenta a razão entre o F calculado e o F tabelado, sempre que esta relação for maior que um a regressão é estatisticamente significativa havendo relação entre as variáveis independentes e dependentes. Para que uma regressão seja não apenas estatisticamente significativa, mas também útil para fins preditivos, o valor da razão deve ser no mínimo maior que quatro (BARROS NETO et al., 1996).

O coeficiente de determinação ou explicação R^2 quantifica a qualidade do ajustamento, pois fornece uma medida da proporção da variação explicada pela equação de regressão em relação à variação total das respostas. Varia de 0 a 100% (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

O modelo obtido para o rendimento do pré-tratamento básico (PTb) é apresentado pela equação 4.

$$PTb = 46,125 + 1,58T + 0,828t + 6,3075C + 1,07TC \quad (4)$$

Onde:

PTb – Pré-tratamento básico;

T – Temperatura;

t- Tempo;

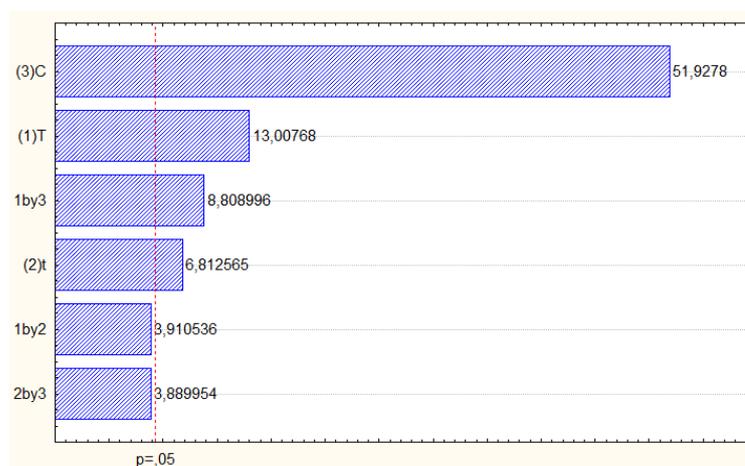
C- Concentração.

Através do modelo presente na equação 4, verifica-se que a variável concentração influencia em torno de 6 vezes mais que as variáveis tempo e temperatura.

Neste caso, o modelo dos dados apresentados na Tabela 10 tem 96,63% das variações obtidas explicadas pelo modelo e com um valor da razão $F_{\text{calculado}}$ e F_{tabelado} de 3,11 indicando que o modelo é estatisticamente significativo, podendo assim afirmar que a concentração de NaOH, a temperatura e o tempo influenciaram na solubilização dos componentes do sorgo sacarino.

O diagrama de Pareto para o processo de pré-tratamento básico do sorgo sacarino *in natura* é apresentado na Figura 12.

Figura 12: Diagrama de Pareto para interação temperatura, tempo e concentração no processo de pré-tratamento com NaOH do sorgo sacarino *in natura*

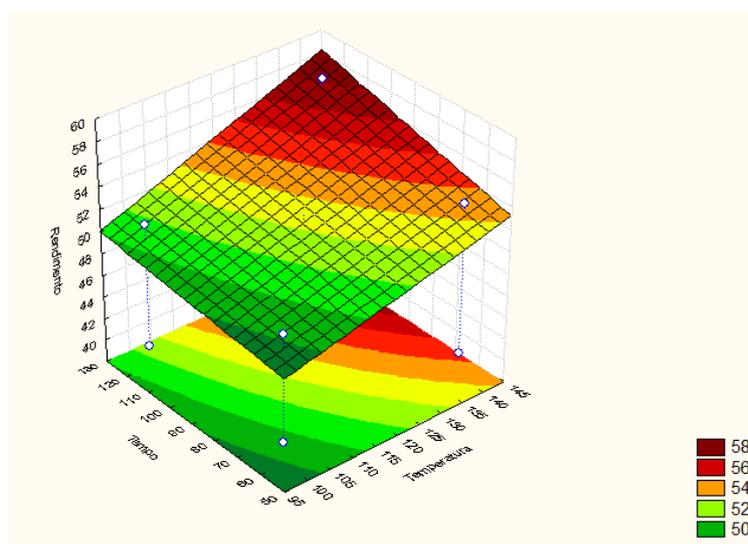


De acordo com o diagrama de Pareto mostrado na Figura 12, verifica-se que a variável de maior influência é a concentração, seguido da temperatura e do tempo, e que a interação entre a concentração e a temperatura apresenta um valor positivo, mostrando que se aumentar a temperatura e a concentração, o percentual do rendimento do pré-tratamento aumenta, mesmo comportamento ocorre para as interações concentração e tempo, temperatura e tempo.

Através do diagrama de Pareto verifica-se que a variável concentração influencia tanto no processo de pré-tratamento básico que as variáveis tempo e temperatura são praticamente desprezíveis.

A Figura 13 apresenta a superfície de resposta do planejamento experimental, podendo ser observado o comportamento das variáveis independentes sobre a variável dependente.

Figura 13: Superfície de Resposta (2^3) para a resposta do rendimento do pré-tratamento básico do sorgo sacarino *in natura*



De acordo com a superfície de resposta apresentada na Figura 13, verifica-se que as variáveis independentes, temperatura e tempo, influenciam aumentando o rendimento no processo de pré-tratamento básico e que a interação entre elas também é significativa, indicando que aumentando a temperatura e o tempo há o aumento no rendimento, fixando a concentração de NaOH na melhor condição. A explicação para tal fato deve-se ao fato de se ao aumentar a temperatura, a lignina e a hemicelulose torna-se mais termolábil e permite a ação do solvente.

A Tabela 11 apresenta os valores os valores obtidos para o rendimento do pré-tratamento com NaOH para o sorgo sacarino livre de extrativos.

Tabela 11: Rendimento do pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos

Experimentos	Temperatura (°C)	Concentração % (m/V)	Tempo(min)	Rendimento (%)
1	100(-1)	1	60	32,14
2	140(+1)	1	60	38,88
3	100(-1)	1	120	36,72
4	140(+1)	1	120	40,77
5	100(-1)	4	60	48,07
6	140(+)	4	60	53,22
7	100(-1)	4	120	50,86
8	140(+1)	4	120	57,85
9	120(0)	2,5	90	43,73
10	120(0)	2,5	90	43,77
11	120(0)	2,5	90	43,25

Os resultados apresentados na Tabela 11 indicam uma maior solubilização no processo de pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos, no experimento oito, cuja temperatura do processo é de 140°C, concentração de NaOH de 4% (m/V) e tempo de 120 minutos, chegando a um rendimento de 57,85%. Já para a temperatura de 100 °C, concentração de NaOH de 1% (m/V) e tempo de 60 minutos obtive-se um menor rendimento da polpação, chegando a 32,14%.

Comparando os valores de rendimento entre os dados da Tabela 9 e 11, não houve praticamente variação nos rendimentos dos pré-tratamentos, ou seja, na solubilização dos compostos do sorgo sacarino, evidenciando que os extrativos são praticamente insolúveis em solução de NaOH. Para o sorgo sacarino *in natura* o rendimento do pré-tratamento foi de 57,62% (Tabela 9), já o rendimento do pré-tratamento do sorgo sacarino livre de extrativos foi de 57,85% (Tabela 11).

A Tabela 12 apresenta a análise de variância para o modelo completo do pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos.

Tabela 12: Análise da variância (ANOVA) para o pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos

Fonte de variação	G.L	Soma quadrática	Média quadrática	F _{cal}	F _{tab}
Regressão	6	562,8819	93,81366	62,2284	6,16
Resíduo	4	6,0303	1,50757		
Falta de ajuste	2	5,8628	2,931406		
Erro puro	2	0,1675	0,083733		
Total	10	568,9122			

O modelo obtido para o rendimento do pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos (PTBLE) é apresentado pela equação 5.

$$PTBLE = 44,478 + 2,87T + 1,7362t + 7,68C \quad (5)$$

Onde:

PTBLE – Pré-tratamento básico livre de extrativos;

T – Temperatura;

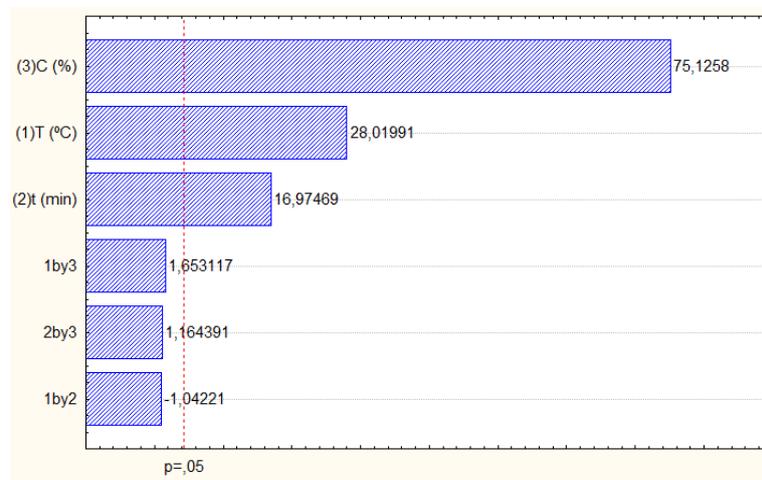
t- Tempo;

C- Concentração.

Neste caso, o modelo dos dados apresentados na Tabela 12 tem 98,94% das variações obtidas explicadas pelo modelo e com um valor da razão $F_{\text{calculado}}$ e F_{tabelado} de 10,10, indicando que o modelo além de ser estatisticamente significativo é também preditivo.

A Figura 14 apresenta o diagrama de Pareto, mostrando a influência que ocorre entre as variáveis temperatura, tempo e concentração.

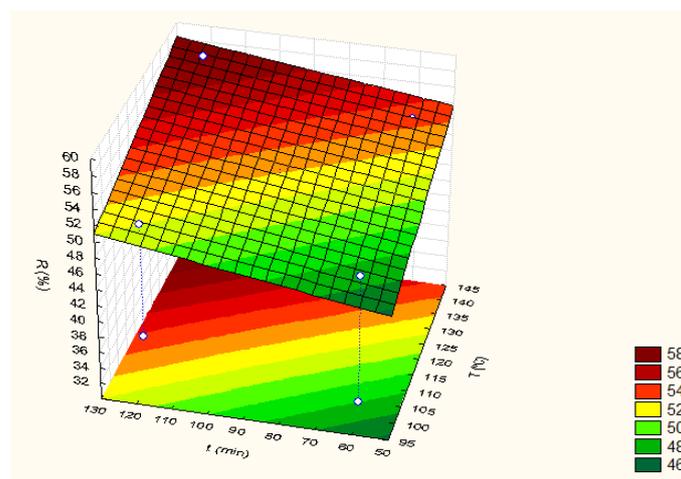
Figura 14: Diagrama de Pareto para interação temperatura, tempo e concentração no processo de pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos



De acordo com o diagrama de Pareto mostrado na Figura 14, verifica-se o mesmo comportamento do pré-tratamento básico do sorgo sacarino *in natura*, cuja variável de maior influência é a concentração, seguido da temperatura e do tempo.

A Figura 15 apresenta a superfície de resposta do planejamento experimental para o pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos, observando o comportamento das variáveis independentes sobre a variável dependente.

Figura 15: Superfície de Resposta (2^3) para a resposta de rendimento do pré-tratamento básico do sorgo sacarino livre de extrativos



De acordo com a superfície de resposta mostrada na Figura 15, verifica-se que o comportamento é o mesmo apresentando na superfície de resposta apresentada na Figura 13 para o pré-tratamento básico do sorgo sacarino *in natura*, cujas variáveis

independentes, temperatura e tempo influenciam aumentando o rendimento no processo de pré-tratamento e que a interação entre elas também é significativa, indicando que aumentando a temperatura e o tempo há aumento no rendimento, fixando a concentração de NaOH na melhor condição.

5.2.1.1 Determinação da composição do sorgo sacarino após etapa de pré-tratamento básico

A Tabela 13 apresenta os valores dos parâmetros analisados do sorgo sacarino após ter passado pela etapa de pré-tratamento com NaOH, assim como seus respectivos desvios padrão, todos expressos em base seca.

Tabela 13: Caracterização química do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH expresso em valores percentuais (%)

Parâmetros Analisados	Sorgo sacarino pré-tratado com NaOH
Umidade	5,11 ± 0,21
Cinzas	5,25 ± 0,31
Lignina	5,31 ± 0,48
Holocelulose	81,11 ± 0,43
Alfa Celulose	66,15 ± 1,78
Hemicelulose	14,96 ± 1,83
Extrativos	14,02 ± 1,1

Analisando os dados apresentados na Tabela 13, observa-se que os percentuais de umidade, cinzas e extrativos praticamente permaneceram constantes após a etapa de pré-tratamento com NaOH, evidenciando que os extrativos e cinzas são praticamente insolúveis em soluções diluída de NaOH (hidróxido de sódio).

A Tabela 8 apresentada no item 5.1.1 apresenta a caracterização química do sorgo sacarino *in natura*, apresentando 6,44% de umidade; 5,76% de cinzas; 15,49% de lignina; 61,61% de holocelulose; 32,75% de alfa-celulose, 28,86% de hemicelulose e 18,06% de extrativos.

O percentual de lignina encontrado para o sorgo sacarino *in natura* foi de 15,49%, já para o sorgo sacarino pré-tratado com NaOH foi de 5,31% evidenciando que a etapa de pré-tratamento reduziu o percentual de lignina em 65,71%.

O sorgo sacarino *in natura* apresentou um percentual de 28,86% de hemicelulose, já para o bagaço do sorgo pré-tratado com NaOH o percentual foi reduzido para 14,96%, obtendo um rendimento de 48,16%, mostrando que a hemicelulose também é solubilizada em solução alcalina diluída.

O percentual encontrado de alfa-celulose para do sorgo sacarino *in natura* foi de 32,75%, já para o sorgo sacarino após ter passado pela etapa de pré-tratamento básico foi de 66,15%, mostrando que após o processo de pré-tratamento houve remoção de lignina e hemicelulose, aumentando assim o percentual de alfa-celulose em 33,44%, fonte de carboidratos de interesse.

Pereira et al., (2010), estudando a extração de nanocelulose de fibras vegetais, encontrou um teor de alfa-celulose de 64,33% para o pseudocaule da bananeira *in natura*, e de 82,85% para a fibra após ter sido passada pelo processo de pré-tratamento com NaOH a 5% (m/V) à temperatura ambiente por 2 horas, seguida de branqueamento com H₂O₂ a 24% (V/V) e NaOH a 4% (m/V), obtendo um aumento percentual de 18,52%, valor esse abaixo do encontrado nesse trabalho.

Silva (2009), estudando pré-tratamentos da palha da cana-de-açúcar para produção de açúcares fermentescíveis, encontrou um percentual de celulose total de 38,1%, já para a palha pré-tratada com ácido sulfúrico a 1% (m/V) a 120 °C por 10 minutos, obteve um percentual de 59,1% de celulose total, e após o pré-tratamento com ácido sulfúrico o material foi deslignificado com solução de NaOH a 1% (m/V) a 100 °C por 1 hora, obtendo um percentual de 74,9% de celulose total.

Philippini (2012), estudando variedades de cana-de-açúcar para produção de bioetanol, encontrou em média um percentual de celulose total de 40,0% do bagaço *in natura*, já para o bagaço extraído com água e etanol, o percentual variou pouco em relação ao bagaço *in natura*, com uma média de 38% de celulose total, já para o bagaço

pré-tratado com ácido sulfúrico a 2,0% (V/V), tempo de residência de 30 minutos, temperatura de 150 °C e relação sólido/líquido 1,5:10, o teor de celulose total foi em torno de 53%, e após o pré-tratamento com ácido sulfúrico, a celulignina foi tratada com NaOH a 1% (m/V), tempo de residência de 30 minutos e relação sólido/líquido de 1:10, obtendo assim um teor de celulose total em torno de 75%.

Pacheco et al., (2012), estudando o bagaço do sorgo sacarino para produção de etanol celulósico encontrou um percentual de celulose total de 40,04%, já para o bagaço pré-tratado com ácido sulfúrico a 1,5% (V/V) numa razão sólido/líquido 1:10 na temperatura de 120 °C por 30 minutos em autoclave, seguido de um tratamento alcalino com NaOH a 4% (m/V) numa razão sólido/líquido 1:10 a 120 °C por 30 minutos, obteve um teor de celulose total de 85,4%.

Pires et al. (2006), estudando o bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com NaOH em dose crescentes de 2,5; 5 e 7,5% (m/V), uma razão 2:1 sólido/solução, temperatura ambiente e tempo de 1; 3; 5 e 7 dias, apresentou um percentual de lignina do bagaço *in natura* de 15,5% valor bem inferior ao encontrado na literatura, já para os bagaços pré-tratados com NaOH a 2,5; 5 e 7,5% (m/V), os teores de lignina foram 14,5; 13,5 e 13%, respectivamente.

Philippini (2012), estudando variedades de bagaço de cana-de-açúcar encontrou um percentual de lignina em torno de 30,0%, já para o bagaço extraído com água seguido de etanol o percentual foi em torno de 26% evidenciando que a lignina é praticamente insolúvel em água e etanol, já para o bagaço pré-tratado com NaOH a 1% (m/V), a uma temperatura de 100 °C e um tempo de 30 minutos, o teor de lignina foi em torno de 15,0%.

O teor de hemicelulose encontrado nesse trabalho para o sorgo sacarino *in natura* foi de 28,86%, já para o sorgo sacarino pré-tratado com NaOH foi de 14,96% mostrando o quanto a hemicelulose é solúvel em ácidos diluídos. Canilha (2007), encontrou um percentual de hemicelulose de 27,50% para o bagaço da cana-de-açúcar, já para o bagaço extraído com etanol e extraído com ciclohexano-etanol o percentual foi de 27,11% e 26,17%, respectivamente, evidenciando que a hemicelulose é insolúvel em solventes orgânicos.

O percentual de holocelulose encontrado neste trabalho para o sorgo sacarino *in natura* foi de 61,61%, já para o sorgo sacarino pré-tratado com NaOH o teor foi de

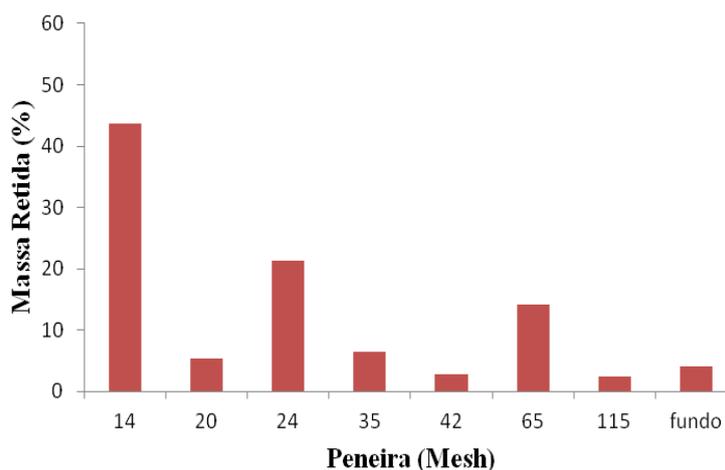
81,11%, valor esse superior ao encontrado para o sorgo sacarino *in natura*, verificando a remoção da lignina e hemicelulose, aumento assim o percentual de alfa-celulose, devido a holocelulose ser a soma dos teores de alfa-celulose mais hemicelulose.

5.2.1.2 Análise granulométrica do sorgo sacarino após pré-tratamento com NaOH

Após a etapa de pré-tratamento com NaOH foi realizada a análise granulométrica do sorgo sacarino, para verificar se após a etapa de pré-tratamento houve redução no tamanho das partículas. O ensaio foi realizado para o sorgo sacarino pré-tratado básico na melhor condição de rendimento obtido na etapa de pré-tratamento, cujo foi no experimento 8, observado no item 5.2.1.

A Figura 16 apresenta o gráfico da análise granulométrica do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH.

Figura 16: Distribuição granulométrica do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH



De acordo com a Figura 16, observa-se que na peneira #14 o percentual de retido ficou em torno de 40%, valor inferior ao encontrado para o sorgo sacarino *in natura*, apresentando na Figura 11 no item 5.1.2.

Observa-se também que nas peneiras #20 e #24 o percentual de retido foi maior ao encontrado na Figura 11, evidenciando que após a etapa de pré-tratamento com NaOH ocorreu uma redução no tamanho de partículas, fato este que pode ser comprovado através do diâmetro de Sauter, cujo para o sorgo *in natura* obteve-se um diâmetro de 0,68 mm e para o sorgo sacarino pré-tratado com NaOH foi de 0,57 mm.

5.2.2 Pré-tratamento básico do sorgo sacarino seguido de pré-tratamento ácido

Após a etapa de pré-tratamento com NaOH do sorgo sacarino, foi realizada a etapa de pré-tratamento com ácido sulfúrico, visando a remoção da hemicelulose presente na fibra. Foi utilizado na etapa de pré-tratamento ácido apenas o sorgo sacarino *in natura* pré-tratado básico, devido ao sorgo pré-tratado básico livre de extrativos ter apresentado o mesmo rendimento de pré-tratamento que o sorgo sacarino *in natura*.

Inicialmente foi preparado o sorgo sacarino pré-tratado básico de acordo com o experimento 8 da etapa de pré-tratamento (item 5.2.1), visto que foi o experimento que se obteve uma maior solubilização dos componentes do material lignocelulósico, 57,62%.

A Tabela 14 mostra os valores obtidos para o rendimento da etapa de pré-tratamento básico seguido do pré-tratamento ácido.

Tabela 14: Rendimento do pré-tratamento básico, seguido do pré-tratamento ácido para o sorgo sacarino

Experimentos	Temperatura (°C)	Concentração % (V/V)	Tempo(min)	Rendimento (%)
1	100(-1)	1	60	20,02
2	140(+1)	1	60	45,72
3	100(-1)	1	120	31,96
4	140(+1)	1	120	59,52
5	100(-1)	4	60	44,28
6	140(+)	4	60	67,22
7	100(-1)	4	120	46,77
8	140(+1)	4	120	70,23
9	120(0)	2,5	90	45,32
10	120(0)	2,5	90	44,77
11	120(0)	2,5	90	45,89

Os resultados apresentados na Tabela 14 indicam uma maior solubilização na etapa de pré-tratamento ácido no experimento oito, cuja temperatura do processo é de 140 °C, concentração de H₂SO₄ de 4% (V/V) e tempo de 120 minutos, chegando a um rendimento de 70,23%. Já para a temperatura de 100 °C, concentração de H₂SO₄ de 1%

(V/V) e tempo de 60 minutos obtive-se um menor rendimento no pré-tratamento ácido, chegando a 20,02%.

A Tabela 15 apresenta a análise de variância para o modelo completo da etapa de pré-tratamento básico do sorgo sacarino seguido de pré-tratamento ácido.

Tabela 15: Análise da variância (ANOVA) para a etapa de pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido

Fonte de variação	G.L	Soma quadrática	Média quadrática	F _{cal}	F _{tab}
Regressão	7	2056,6336	293,8048	46,81149	8,94
Resíduo	3	18,8290	6,276339		
Falta de ajuste	1	18,2018	18,20175		
Erro puro	2	0,6273	0,313633	58,03	
Total	10	2075,4626			

O modelo obtido para o rendimento da etapa do pré-tratamento ácido (RPTa) é apresentado pela equação 6.

$$RPTa = 47,43 + 12,46T + 8,91C + 3,90t - 0,86 TC - 2,53Ct \quad (6)$$

Onde:

RPTa – rendimento do pré-tratamento ácido;

T – Temperatura;

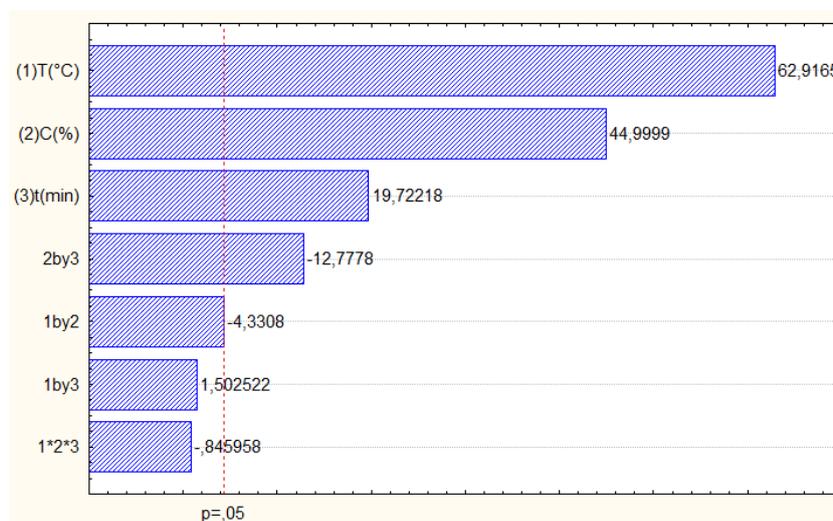
t- Tempo;

C- Concentração

Neste caso, o modelo dos dados apresentados na Tabela 14 tem 99,09% das variações obtidas explicadas pelo modelo e com um valor da razão $F_{\text{calculado}}$ e F_{tabelado} de 5,24, indicando que o modelo além de ser estatisticamente significativo é também preditivo.

A Figura 16 apresenta o diagrama de Pareto, mostrando a influência que ocorre entre as variáveis temperatura, tempo e concentração.

Figura 16: Diagrama de Pareto para interação temperatura, tempo e concentração na etapa de pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido

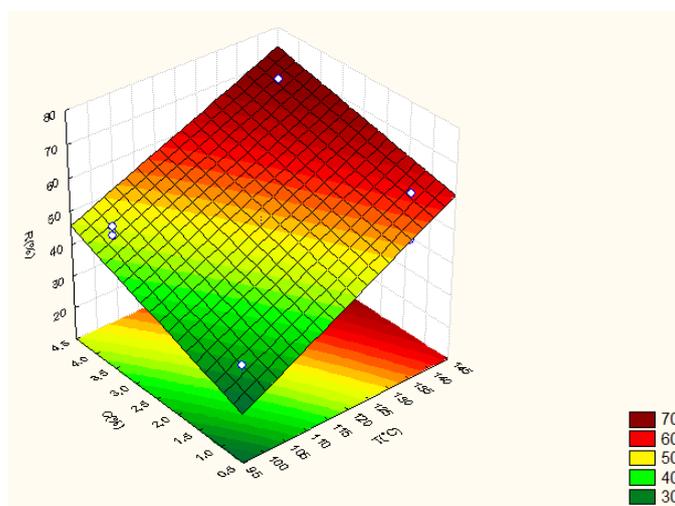


De acordo com o diagrama de Pareto mostrado na Figura 16, verifica-se que a variável de maior influência é a temperatura, seguido da concentração de ácido e do tempo, e que a interação entre concentração e tempo apresenta um valor negativo, mostrando que se houver aumento na concentração de ácido e diminuição no tempo do processo, o rendimento do pré-tratamento diminuirá. O mesmo comportamento ocorre para a interação entre a temperatura e a concentração. A interação entre tempo e temperatura não apresenta significância para o processo.

Através do diagrama de Pareto verifica-se que as variáveis temperatura e concentração influenciam tanto na etapa do pré-tratamento ácido que o tempo quase se torna desprezível.

A Figura 17 apresenta a superfície de resposta do planejamento experimental para a etapa de pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido do sorgo sacarino.

Figura 17: Superfície de Resposta (2^3) para a resposta rendimento do pré-tratamento básico seguido do pré-tratamento ácido



De acordo com a superfície de resposta mostrada na Figura 17, verifica-se que as variáveis independentes, temperatura e concentração, influenciam aumentando o rendimento na etapa do pré-tratamento ácido e que a interação entre elas também é significativa, indicando que aumentando a temperatura e a concentração também ocorre aumento no rendimento, fixando o tempo na melhor condição. A explicação para tal fato deve ser porque ao aumentar a temperatura, a hemicelulose torna-se mais termolábil e permite a ação do solvente.

5.2.2.1. Determinação da composição do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido

Após a etapa de pré-tratamento com NaOH seguido da etapa de pré-tratamento com H_2SO_4 do sorgo sacarino foi realizado a caracterização para determinação de sua composição química, para comprovação se as etapas de pré-tratamento foram eficientes na solubilização e decomposição da hemicelulose e lignina, respectivamente.

Na etapa do pré-tratamento ácido apresentado no item 5.2.2, após o sorgo sacarino ter passado pelo processo de pré-tratamento básico, o melhor rendimento no processo de solubilização dos componentes do material lignocelulósico ocorreu para o experimento 8, chegando a 70,23% de solubilização dos componentes presentes no material lignocelulósico pré-tratado com NaOH. A caracterização do sorgo sacarino

pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido foi realizada para a condição 8 do processo de pré-tratamento com ácido sulfúrico.

A Tabela 16 apresenta os valores dos parâmetros analisados do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, assim como seus respectivos desvios padrão, todos expressos em base seca.

Tabela 16: Caracterização química do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido expresso em valores percentuais (%)

Parâmetros Analisados	Sorgo pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido
Umidade	5,51 ± 0,65
Cinzas	5,12 ± 0,13
Lignina	15,12 ± 0,43
Holocelulose	62,94 ± 0,34
Alfa Celulose	54,99 ± 1,16
Hemicelulose	7,95 ± 1,2
Extrativos	14,87 ± 0,56

Analisando os dados apresentados na Tabela 16, observa-se que os percentuais de umidade, cinzas e extrativos praticamente permaneceram constantes após as etapas pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido, apresentando o mesmo comportamento da etapa de pré-tratamento com NaOH, evidenciando que os extrativos e cinzas são praticamente insolúveis em soluções diluída de NaOH (hidróxido de sódio) e H₂SO₄ (ácido sulfúrico).

A Tabela 8 apresentada no item 5.1.1 apresenta a caracterização química do sorgo sacarino *in natura*, apresentando 6,44% de umidade; 5,76% de cinzas; 15,49% de

lignina; 61,61% de holocelulose; 32,75% de alfa-celulose, 28,86% de hemicelulose e 18,06% de extrativos.

O percentual de lignina encontrado para o sorgo sacarino *in natura* foi de 15,49%, já para o sorgo pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido foi de 15,12%.

O sorgo sacarino *in natura* apresentou um percentual de 28,86% de hemicelulose, já o do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido o percentual de hemicelulose caiu para 7,95%, chegando a uma solubilização de 79,25%, comprovando que após as duas etapas de pré-tratamento houve solubilização da hemicelulose.

O percentual encontrado de alfa-celulose para do sorgo sacarino *in natura* foi de 32,75%, já para o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido o teor de alfa-celulose foi reduzido para 54,99%, mostrando que nas condições do pré-tratamento ácido ocorreu a hidrólise da celulose, devido a essa redução no seu percentual, quando comparado com o sorgo sacarino pré-tratado básico cujo teor foi de 66,15%.

O teor de hemicelulose encontrado nesse trabalho para o sorgo sacarino *in natura* foi de 28,86%, já para o sorgo sacarino pré-tratado com NaOH seguido de pré-tratamento ácido foi 7,95% mostrando o quanto a hemicelulose é solúvel em ácidos diluídos.

O percentual de holocelulose encontrado neste trabalho para o sorgo sacarino *in natura* foi de 61,61%, já o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido o teor de holocelulose foi de 62,94%, valor praticamente igual ao do bagaço *in natura*, isto devido a suposta hidrólise da celulose.

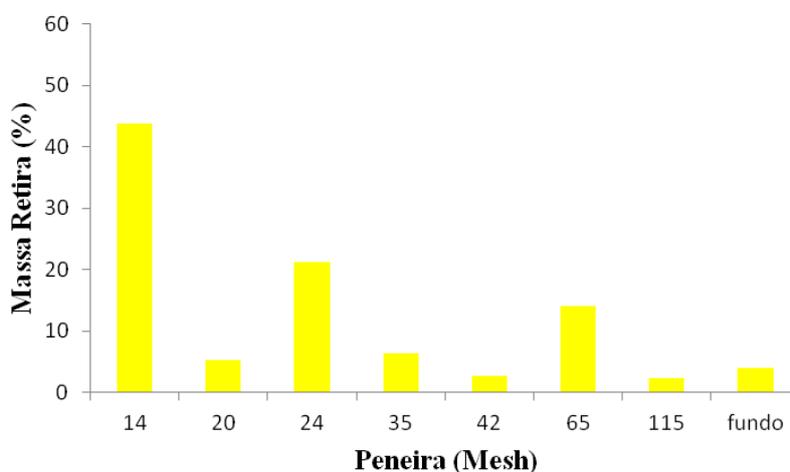
5.2.2.2. Análise granulométrica do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido

Após a etapa de pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido foi realizada a análise granulométrica do sorgo sacarino, para verificar se após as etapas de pré-tratamento houve redução no tamanho das partículas.

O ensaio foi realizado para o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido na melhor condição de rendimento obtido na etapa do pré-tratamento ácido, cujo foi no experimento 8, observado no item 5.2.2.

A Figura 19 apresenta o gráfico da análise granulométrica do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido.

Figura 18: Distribuição granulométrica do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido



De acordo com a Figura 19, observa-se que houve uma grande diminuição no tamanho das partículas, ficando a maioria das partículas retidas nas peneiras #65, #115 e no fundo, cujos os percentuais foram em torno de 15%, 30% e 28% respectivamente. O diâmetro de Sauter para o sorgo sacarino após ter passado pelo processo de pré-tratamento básico seguido do pré-tratamento ácido foi de 0,18 mm, diâmetro esse bem inferior ao encontrado para o sorgo sacarino *in natura* e pré-tratado com NaOH.

Savegnago et al. (2009), estudando a hidrólise enzimática do capim elefante, obteve melhores rendimentos na hidrólise com menores granulometrias.

Leão (2014), estudando a hidrólise ácida e enzimática da fibra do sisal encontrou um diâmetro médio de Sauter de 0,21mm e 0,49 mm para duas granulometrias diferentes para a fibra do sisal *in natura*.

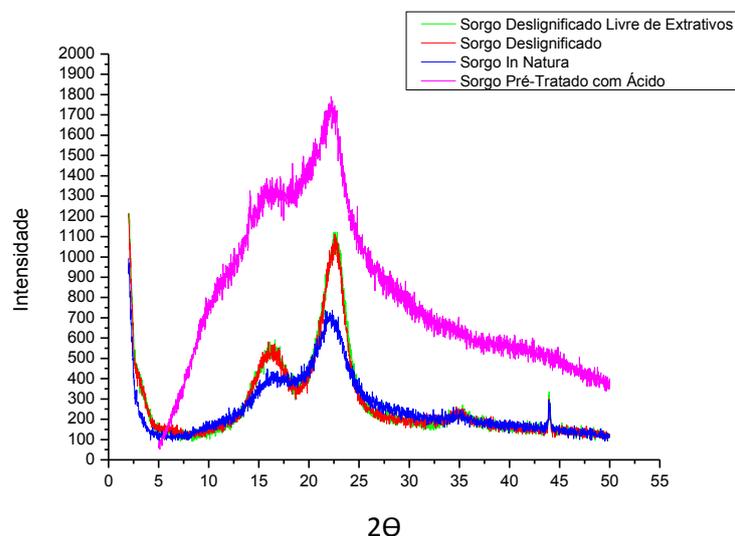
5.3. CARACTERIZAÇÕES MORFOLÓGICAS , TÉRMICAS E MECÂNICAS

5.3.1 Determinação da cristalinidade por difração de raios X (DRX)

Na análise de difratograma por raios-x foram analisados o sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado básico, pré-tratado básico livre de extrativos e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento com ácido sulfúrico, assim obtendo os índices de cristalinidade para cada material.

A Figura 20 mostra os difratograma de raios-x, para o sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado básico, pré-tratado básico livre de extrativos e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido.

Figura 19: Difratograma de raios-x do sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado básico, pré-tratado básico livre de extrativos e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido



A Figura 20 apresenta um pico em torno de $22,6^\circ$, pico este característico da celulose cristalina, e através da equação 2 apresentada no item 4.6.2 foram calculados os índices de cristalinidade do sorgo sacarino *in natura*, e do sorgo sacarino pré-tratado básico, pré-tratado básico livre de extrativos e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, valores estes apresentados na Tabela 17.

Tabela 17: Índices de cristalinidade do sorgo sacarino *in natura* e após os processos de pré-tratamento

Sorgo Sacarino	Índice de Cristalinidade (%)	Rendimento da polpação (%)	Cristalinidade do material (Corrigido pela etapa de pré-tratamento)
<i>in natura</i>	51,35	-	51,35
Pré-tratado básico	72,85	57,62	41,97
Pré-tratado básico livre de extrativos	73,75	57,85	42,66
Pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido	27,77	70,23	19,50

Analisando os dados da Tabela 17, os índices de cristalinidade corrigidos pelo rendimento da etapa de pré-tratamento da biomassa vegetal, diminui de 51,35 % para o sorgo sacarino *in natura* para 41,97 % para o sorgo pré-tratado básico, 42,66 % para o sorgo pré-tratado básico livre de extrativos e de 19,50 % para o sorgo pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido totalizando uma redução de 18,26 % para o sorgo sacarino pré-tratado básico, de 16,92 % para o sorgo sacarino pré-tratado básico livre de extrativos e de 62,02 % para o sorgo pré-tratado básico seguido de pré-tratamento com ácido sulfúrico.

Segundo Hahn-Hagerdal et al.,(2006), essa redução ocorre devido a etapa de pré-tratamento que tem como objetivo aumentar o tamanho dos poros e reduzir a cristalinidade da celulose de forma a melhorar sua conversão enzimática.

Silva (2009), encontrou um índice de cristalinidade de 50,2 % para a palha de cana-de-açúcar *in natura* e de 33,7 % e para a palha de cana-de-açúcar de pré-tratada com ácido sulfúrico seguido de deslignificação alcalina, valores próximo aos encontrados nesse trabalho para o sorgo sacarino *in natura*. Para o sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, pré-tratado com NaOH livre de extrativos e pré-tratado com NaOH seguido de pré-tratamento ácido o índice de cristalinidade foi menor, devido a

combinação dos tratamentos ácidos e básicos, reduzindo assim os teores de hemicelulose e lignina.

Rabelo (2010), estudando pré-tratamentos de variedades de madeira com hidróxido de cálcio e com peróxido de hidrogênio obteve um índice de cristalinidade para a madeira *in natura* de aproximadamente de 68,0 %, já para a madeira pré-tratada com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e corrigindo o percentual pelo rendimento da deslignificação o índice foi de 40,1 %, já para a madeira pré-tratada com H_2O_2 o índice foi de 33,5 %.

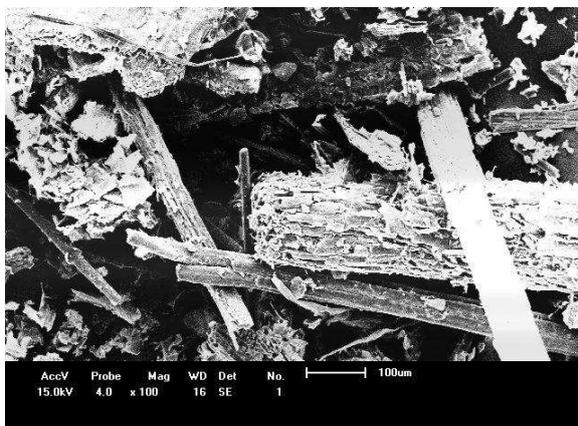
Diversos estudos mostram que o índice de cristalinidade dos materiais lignocelulósicos aumenta após a etapa de pré-tratamento, fato esse justificado pela remoção de lignina e/ou hemicelulose, sendo estas estruturas amorfas, expondo a celulose cristalina (ZHAO; WANG; LIU, 2008). Entretanto, o índice de cristalinidade o qual mede a quantidade de celulose cristalina no sólido total, deve ser corrigida pelo rendimento da etapa de pré-tratamento pelo o qual a biomassa vegetal é submetida.

Como resultado o índice de cristalinidade diminui, já que nas etapas de pré-tratamento há um rompimento da estrutura rígida da biomassa vegetal diminuindo a barreira física (HIMMEL et al.,2007).

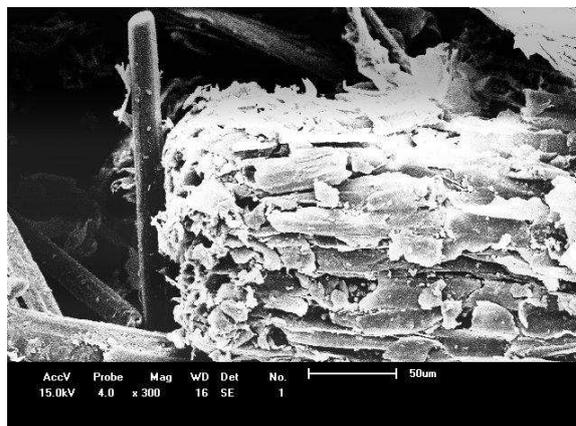
5.3.2. Análise Morfológica do sorgo sacarino por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A avaliação das modificações ocorridas na morfologia do sorgo sacarino foi realizada por análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram submetidas ao método as amostras de sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado básico e pré-tratado básico livre de extrativos. A Figura 21 apresenta as micrografias do sorgo sacarino *in natura* com 100, 300, 500 e 1000x de magnificação.

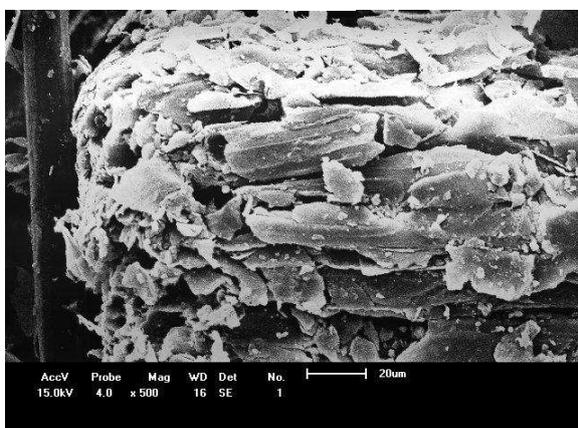
Figura 20 : Micrografia do sorgo sacarino *in natura* (a)100x, (b) 300x, (c) 500x, (d) 1000x



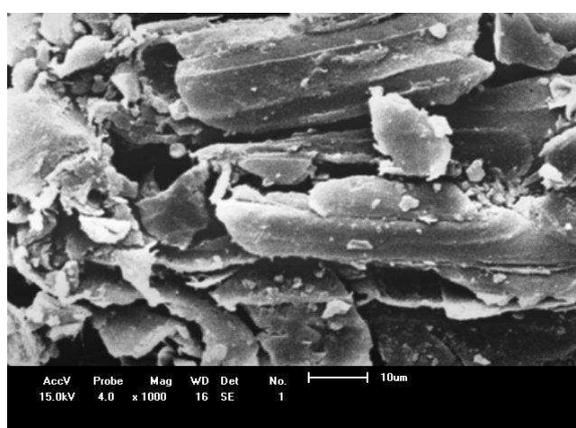
(a)



(b)



(c)



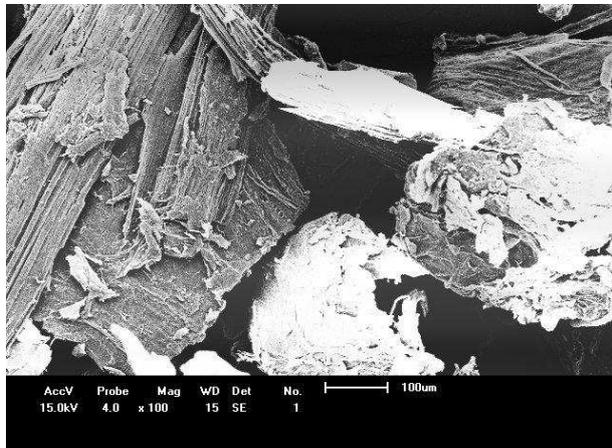
(d)

Na Figura 21 (a, b, c, d) é apresentada a microestrutura física do sorgo sacarino *in natura*, observa-se uma microestrutura bastante rígida e rugosa, coberta por uma camada opaca (extrativos). Esse comportamento foi semelhante ao encontrado por Leão (2014), ao estudar a fibra do sisal encontrando uma matriz heterogênea mais bastante ordenada.

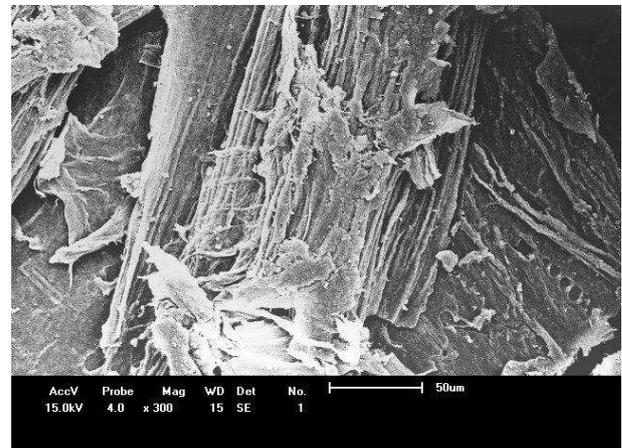
Segundo Pereira (2015) a fibra é formada por listras paralelas e Cunha et al., (2011) afirmam que essa camada opaca vista no material *in natura* é característica dos extrativos.

Na Figura 22 são apresentadas as micrografias do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH com 100, 300, 500 e 1000x de magnificação.

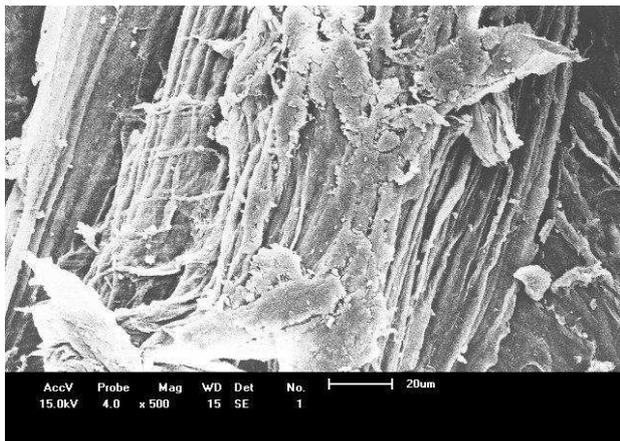
Figura 21 : Micrografia do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH. (a)100x, (b) 300x, (c) 500x, (d) 1000x



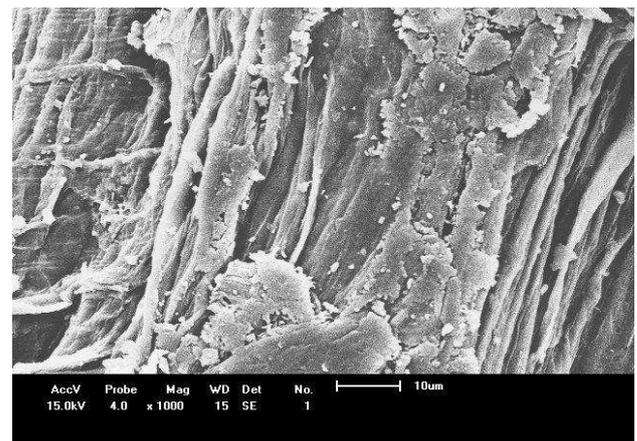
(a)



(b)



(c)

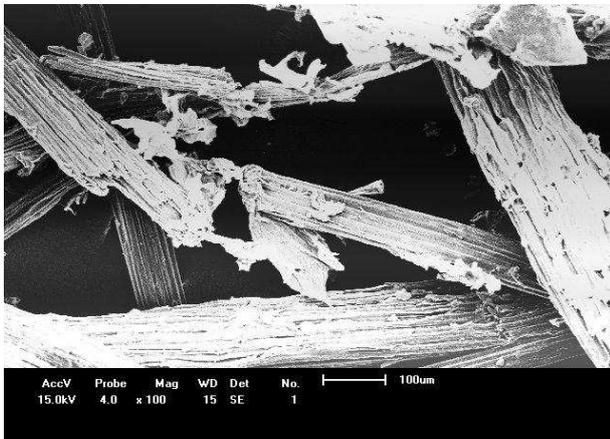


(d)

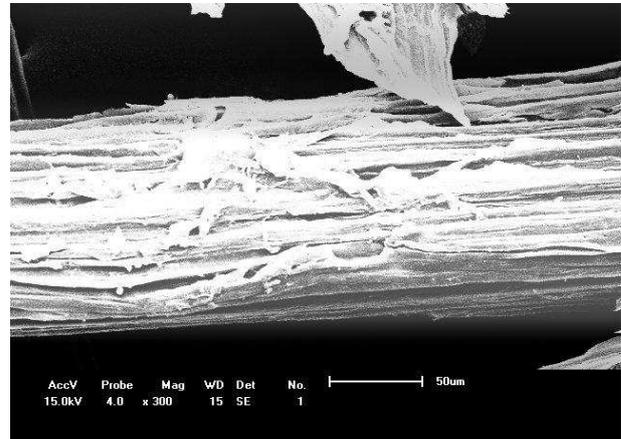
Na Figura 22 (a, b, c, d) observa-se que após a etapa de pré-tratamento com NaOH a 4% por um período de 2 horas que as fibras ficaram mais expostas e que a camada mais externa e rugosa foi removida, tornando a matriz mais porosa e assim proporcionando a biomassa uma melhor disponibilidade das fibras celulósicas a processos subsequentes, tais como sacarificação enzimática.

Na Figura 23 são apresentadas as micrografias do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH livre de extrativos com 100, 300, 500 e 1000x de magnificação.

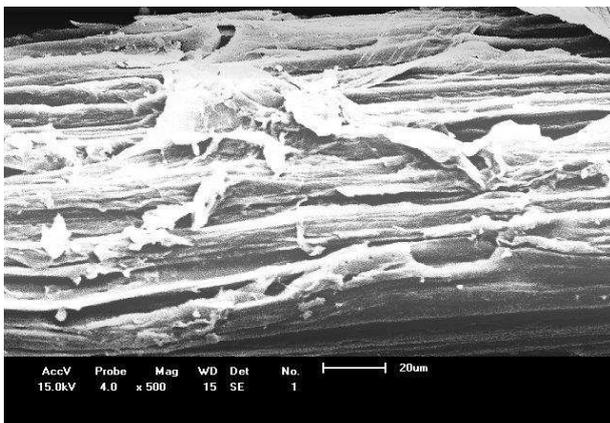
Figura 22 : Micrografia do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH livre de extrativos (a)100x, (b) 300x, (c) 500x, (d) 1000x



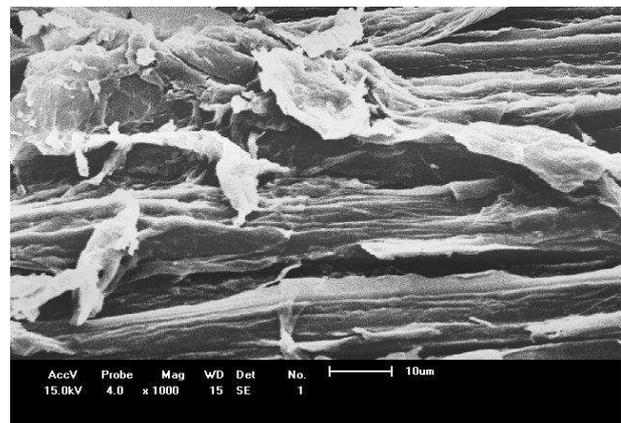
(a)



(b)



(c)



(d)

Na Figura 23 (a, b, c, d), observa-se praticamente o mesmo comportamento da Figura 22, sendo que agora com aspecto mais nítido, devido a etapa de extração dos extrativos antes da etapa de pré-tratamento.

As micrografias das Figuras 21, 22 e 23, corroboram com as análises químicas, as quais evidenciam a solubilização dos compostos da matriz lignocelulósica, tornando-a mais exposta a cada etapa de processo, e segundo Leão (2014) isso faz com que ocorra um aumento da área superficial. Segundo Ohgren et al., (2007), as micrografias corroboram com as análise físico-químicas, as quais evidenciam uma grande solubilização dos componentes, tornando assim as fibras mais expostas, aumentando assim a área superficial do material.

As imagens obtidas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) comprovam mudanças na morfologia da biomassa, causada pela etapa de deslignificação com NaOH. A etapa de pré-tratamento visa a retirada da lignina e/ou hemicelulose, tornando a biomassa mais acessível a ação das enzimas ou de outros catalisadores

Analisando-se as micrografias do sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado básico e pré-tratado básico livre de extrativos, observa-se uma mudança notória na microestrutura morfológica da biomassa vegetal *in natura* para a biomassa após ter sido pré-tratada com NaOH e com NaOH livre de extrativos. As Figuras 22 e 23 apresentam praticamente o mesmo aspecto, evidenciando que a eliminação dos extrativos não modifica significadamente a morfologia vegetal.

As micrografias apresentadas na Figura 20 mostram a amostra vegetal com um aspecto rugoso e rígido característico da lignina, já para as micrografias apresentadas nas Figuras 22 e 23, observa-se o material mais nítido e em forma de fibras desorganizadas característica das longas cadeias da celulose, tornando assim a celulose mais exposta a etapa da hidrólise enzimática.

Segundo Silva (2009), quando uma biomassa vegetal é submetida a etapas de pré-tratamento, grande parte das células vegetais que correspondem às células de parênquima que são células de formato achatado e floculoso formando uma camada sobre as fibras celulósicas como pode ser observado na Figura 20, são removidas. Após a etapa de deslignificação alcalina, observa-se nas Figuras 22 e 23 grandes quantidades de células celulósicas livres, mostrando que a etapa de deslignificação alcalina pode proporcionar uma melhor disponibilidade das fibras celulósicas para processos subsequentes, como a conversão enzimática da celulose em glicose, no processo de obtenção do etanol de segunda geração.

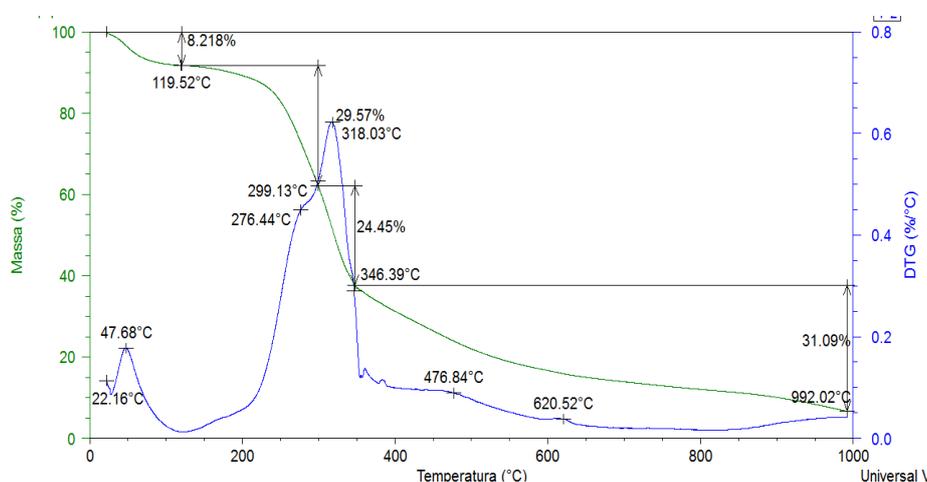
Nascimento (2011), estudando a deslignificação alcalina do bagaço da cana-de-açúcar com 4% e 7% de NaOH, observou também o mesmo comportamento encontrado neste trabalho. Ele afirma que, após a etapa de deslignificação alcalina, são eliminados ceras, cinzas e outros fragmentos, tornando as fibras mais nítidas, promovendo uma abertura e fragmentação da estrutura morfológica do material lignocelulósico, tornando a celulose mais disponível a hidrólise enzimática.

5.3.3. Caracterização Térmica

A técnica da análise termogravimétrica (TG) e sua derivada (DTG) foi utilizada para o estudo do comportamento térmico das amostras do sorgo sacarino *in natura*, assim como para o sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, pré-tratado com NaOH e livre de extrativos e pré-tratado com NaOH seguido de pré-tratamento com ácido sulfúrico, sempre utilizando as amostras dos bagaços pré-tratados nas melhores condições de pré-tratamento, ou seja, nos melhores rendimentos obtidos.

A Figura 24 apresenta as curvas TG/DTG referente ao sorgo sacarino *in natura*.

Figura 23 : Curvas TG/DTG do sorgo sacarino *in natura*, obtidas em atmosfera de N₂ com razão de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000 °C.



Analisando as curvas TG/DTG da Figura 24 para o sorgo sacarino *in natura*, observa-se uma primeira perda de massa na faixa de temperatura entre 22-120 °C, sendo esta etapa relacionada com a perda de umidade do sorgo sacarino, indicando 8,2% de perda de massa. A segunda etapa é atribuída a degradação da hemicelulose ocorrendo no intervalo entre 120-299 °C, indicando 29,57% de perda de massa. A terceira etapa ocorreu entre 299-346 °C sendo referente a degradação da celulose, indicando 24,45% de perda de massa e por fim ocorreu a quarta etapa entre 346-992 °C sendo relacionada a degradação da celulose e lignina e indicando 31% de perda de massa. Miranda (2011), estudando o bagaço do sorgo sacarino obteve o comportamento térmico semelhante ao encontrado nesse trabalho, o primeiro pico foi desconsiderado, evidenciando que era perda de umidade, um segundo pico foi encontrado entre 250 e 370°C, citando como

pico característico da degradação da hemicelulose e celulose e que a última faixa de temperatura é característica da degradação da lignina.

Santos et al.,(2011b) através do estudo da estocagem do bagaço de cana-de-açúcar por análise térmica, utilizaram a celulose D microcristalina (Vetec) e a lignina fornecida pela Dedini, e fez o estudo térmico através da termogravimetria. Nas curva TG/DTG da celulose microcristalina os autores observaram três estágios de perda de massa. O primeiro estágio em temperaturas até 100 °C correspondendo a perda de umidade, o segundo estágio de perda de massa ocorrendo entre 200-350 °C, com temperatura de pico de 324 °C, correspondendo a decomposição de matéria orgânica com geração de material carbonizado. O terceiro estágio de perda de massa ocorreu entre 350-480 °C, sendo a etapa correspondente a queima do material carbonizado.

Na análise termogravimétrica para a lignina realizada por Santos et al.,(2011b), os autores observaram dois estágios de perda de massa, um ocorrendo entre 25-110°C com temperatura de pico em 48 °C correspondendo a perda de umidade. O segundo estágio de perda de massa ocorreu entre 110-590 °C, com temperatura máxima em 371°C, referindo-se a degradação da lignina.

Orfão e Figueiredo (2001), evidenciam que em temperaturas abaixo de 230 °C ocorre a decomposição da hemicelulose e que entre 230-260 °C a hemicelulose e a celulose sofrem decomposição térmica e que entre 260-290 °C deve-se considerar o final da decomposição da hemicelulose, começando a partir desse ponto a decomposição da celulose.

Heikkinen et al.,(2004) estudando amostras de pinus por análise térmica, observaram através das curvas TG/DTG que a hemicelulose e a lignina começam a se decomporem em temperaturas mais baixas do que a celulose, devido a lignina apresentar uma longa faixa de temperatura.

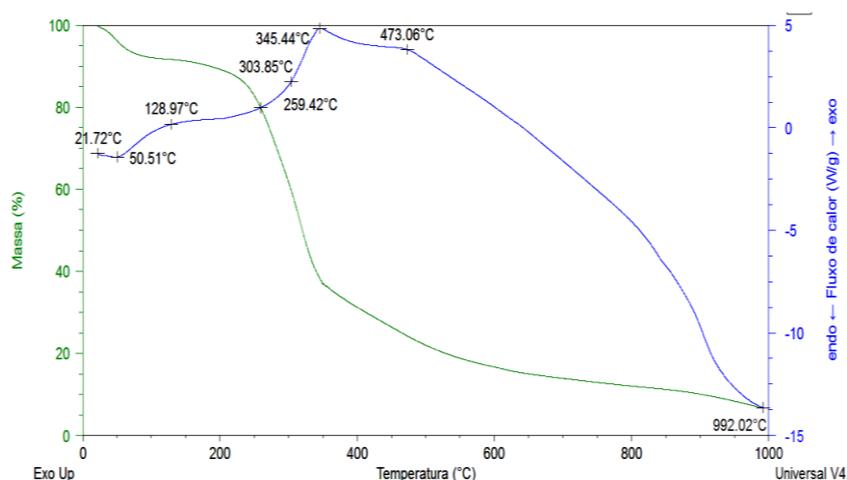
A partir das curvas e com auxílio do software TA Universal Analysis©, foi possível determinar o número de etapas de perdas de massa, os intervalos de temperatura relacionados a cada etapa, assim como o percentuais de perdas de massa (%) e as perdas de massa em miligramas (mg). Os dados obtidos são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18: Dados obtidos nas curvas TG/DTG do sorgo sacarino *in natura*

Amostra	Etapas	Intervalo de Temperatura (°C)	Temperatura de Pico (°C)	Perda de Massa		Atribuições
				(mg)	(%)	
Sorgo sacarino <i>in natura</i>	1	22-120	48	0,42	8,22	Desidratação
	2	120-299	276	1,14	29,57	Decomposição da hemicelulose
	3	299-346	318	1,66	24,45	Decomposição da celulose
	4	346-992	477	1,54	31,09	Decomposição da celulose e lignina

Analisando os dados contidos na Tabela 18, observa-se um somatório referente as perdas de massa de 93,33%, restando 6,67%, percentual esse referente ao resíduo, característico das cinzas, correspondendo a 0,35 mg da massa inicial.

Também foi realizado a análise da calorimetria exploratória diferencial (DSC) do sorgo sacarino *in natura*, e com o auxílio do Software TA Universal Analysis©, pôde-se identificar as transições ocorridas na amostra do sorgo sacarino *in natura*, identificando as variações de entalpia, endotérmica ou exotérmica, ou seja, se houve absorção ou liberação de energia em cada umas das transições ocorridas. A curva TG/DSC para o sorgo sacarino *in natura* se encontra na Figura 25.

Figura 24 : Curva TG/DSC do sorgo sacarino *in natura*

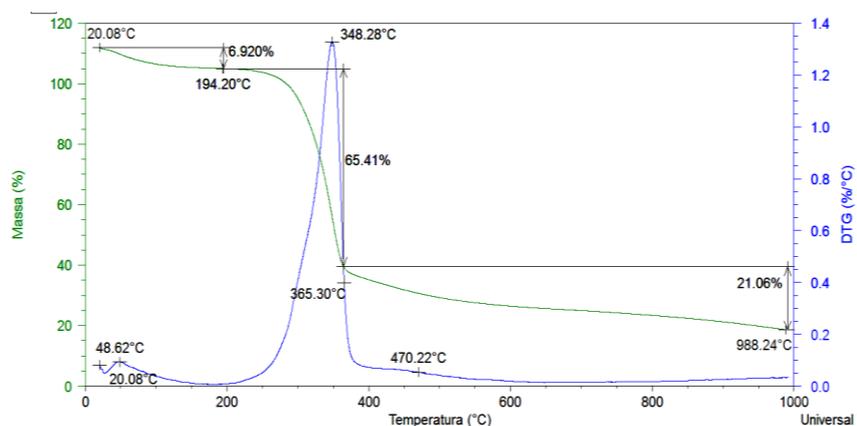
Através da análise das curvas presentes na Figura 25, observa-se quatro transições, sendo duas transições endotérmicas e duas transições exotérmicas. A primeira transição é endotérmica e está associada a vaporização ocorrendo no intervalo de temperatura entre 22-129 °C; a segunda transição também endotérmica refere-se a decomposição da hemicelulose entre 129-303 °C; a terceira transição ocorreu entre 303-346 °C referente a degradação oxidativa sendo a mesma exotérmica e a última transição também exotérmica refere-se a degradação oxidativa da celulose e lignina ocorrendo entre 346-992 °C. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 19.

Tabela 19: Dados obtidos na curva DSC do sorgo sacarino *in natura*

Amostra	Transições	Intervalo de Temperatura (°C)	Temperatura de Pico (°C)	Atribuições
Sorgo sacarino <i>in natura</i>	1	22-129	50,5	Endotérmico, associado a vaporização
	2	129-303	259	Endotérmico, referente a decomposição
	3	303-346	345	Exotérmica, referente a degradação oxidativa
	4	346-992	473	Exotérmica, referente a degradação oxidativa

A Figura 26 apresenta as curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH.

Figura 25 : Curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, obtidas em atmosfera de N₂ com razão de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000 °C.



Analisando as curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH presente na Figura 26, observa-se uma primeira etapa de perda de massa ocorrendo entre 20 - 194 °C, sendo característico da desidratação do material, indicando uma perda de massa de 6,92%. A segunda etapa de perda de massa ocorre entre 194 - 365°C, caracterizando a decomposição da hemicelulose e celulose indicando 65,41% de perda de massa. Na terceira etapa do gráfico ocorre a decomposição da celulose e lignina entre 365 - 988 °C, indicando 21,06% de perda de massa. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 20.

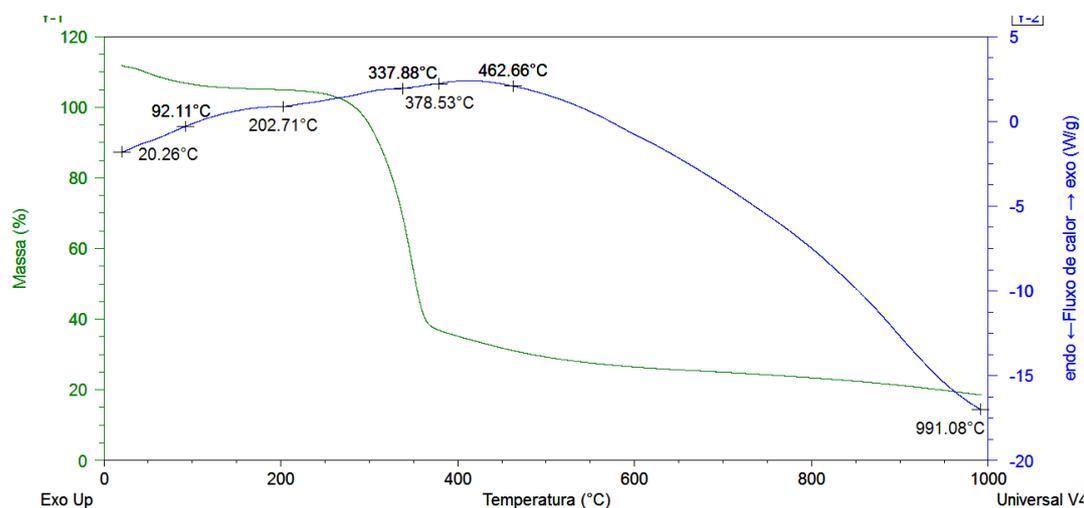
Tabela 20: Dados obtidos nas curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH

Amostra	Etapas	Intervalo de Temperatura (°C)	Temperatura de Pico (°C)	Perda de Massa		Atribuições
				(mg)	(%)	
Sorgo sacarino pré-tratado com NaOH	1	20-194	49	0,29	6,9	Desidratação
	2	194-365	348	2,72	65,41	Decomposição da hemicelulose e celulose
	3	365-988	470	0,9	21,06	Decomposição da celulose e lignina

Analisando os dados contidos na Tabela 20, observa-se um somatório referente as perdas de massa de 93,37%, restando 6,63%, percentual esse referente ao resíduo, característico das cinzas, correspondendo a 0,27 mg da massa inicial.

Também foi realizado a análise da calorimetria exploratória diferencial (DSC) do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, e com o auxílio do Software TA Universal Analysis©, pôde-se identificar as transições ocorridas na amostra do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, identificando as variações de entalpia, endotérmica ou exotérmica, ou seja, se houve absorção ou liberação de energia em cada umas das transições ocorridas. A curva TG/DSC para o sorgo sacarino pré-tratado com NaOH se encontra na Figura 27.

Figura 26 : Curva TG/DSC do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH



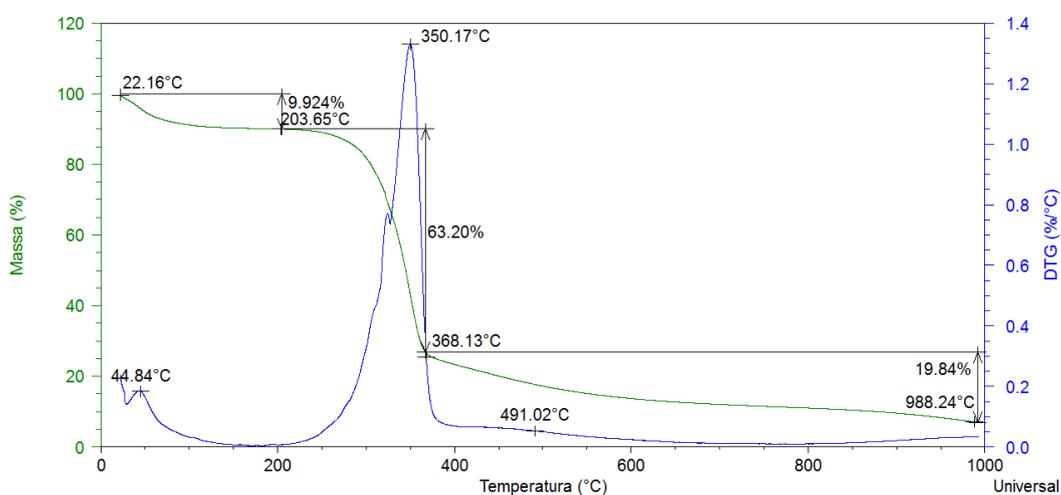
A curvas TG/DSC do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH mostradas na Figura 27 apresentou três transições, uma endotérmica e duas exotérmicas. A primeira transição está associada a vaporização ocorrendo no intervalo de temperatura entre 20-202 °C; a segunda transição é referente a degradação oxidativa da hemicelulose e celulose ocorrendo entre 202-378 °C; a terceira transição ocorreu entre 378-991 °C referente a degradação oxidativa da celulose e lignina. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 21.

Tabela 21: Dados obtidos na curva DSC do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH

Amostra	Transições	Intervalo de Temperatura (°C)	Temperatura de Pico (°C)	Atribuições
Sorgo sacarino pré-tratado com NaOH	1	20-202	92	Endotérmico, referente a vaporização
	2	202-378	337	Exotérmica, referente a degradação oxidativa
	3	378-991	462	Exotérmica, referente a degradação oxidativa

A Figura 28 apresenta as curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos.

Figura 27 : Curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos, obtidas em atmosfera de N₂ com razão de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000 °C.



Analisando as curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos, presentes na Figura 28, observa-se uma primeira etapa de perda de massa ocorrendo entre 22 - 203 °C, sendo característico da desidratação do material, indicando uma perda de massa de 9,9%. A segunda etapa de perda de massa ocorre entre 203 - 368°C, caracterizando a decomposição da hemicelulose e celulose indicando 63,20% de perda de massa. Na terceira etapa do gráfico ocorre a decomposição da celulose e

lignina entre 368 - 988 °C, indicando 19,84% de perda de massa. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 22.

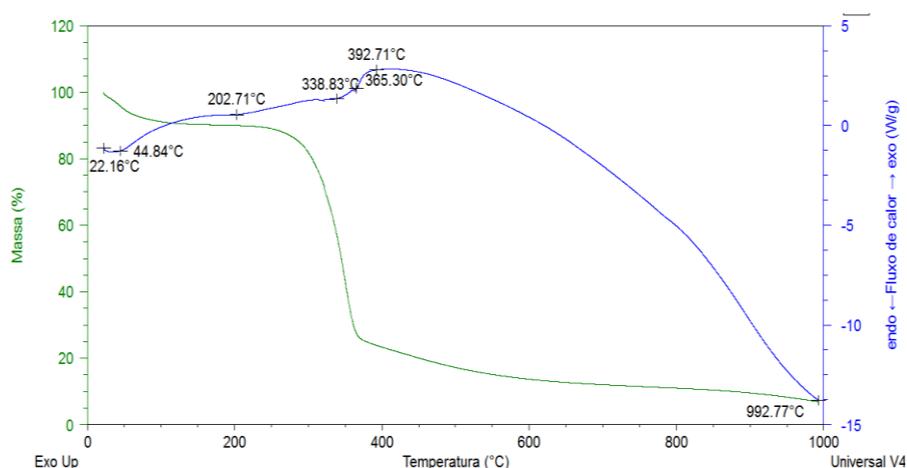
Tabela 22: Dados obtidos nas curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos

Amostra	Etapas	Intervalo de Temperatura (°C)	Temperatura de Pico (°C)	Perda de Massa		Atribuições
				(mg)	(%)	
Sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos	1	22-203	45	0,49	9,9	Desidratação
	2	203-368	348	3,08	63,20	Decomposição da hemicelulose e celulose
	3	368-988	491	1,04	19,84	Decomposição da celulose e lignina

Analisando os dados contidos na Tabela 22, observa-se um somatório referente as perdas de massa de 92,94%, restando 7,06%, percentual esse referente ao resíduo, característico das cinzas, correspondendo a 0,36 mg da massa inicial.

Também foi realizado a análise da calorimetria exploratória diferencial (DSC) do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos, e com o auxílio do Software TA Universal Analysis©, pôde-se identificar as transições ocorridas na amostra do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos, identificando as variações de entalpia, endotérmica ou exotérmica, ou seja, se houve absorção ou liberação de energia em cada umas das transições ocorridas. A curva TG/DSC para o sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos se encontra na Figura 29.

Figura 28 : Curva TG/DSC do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos



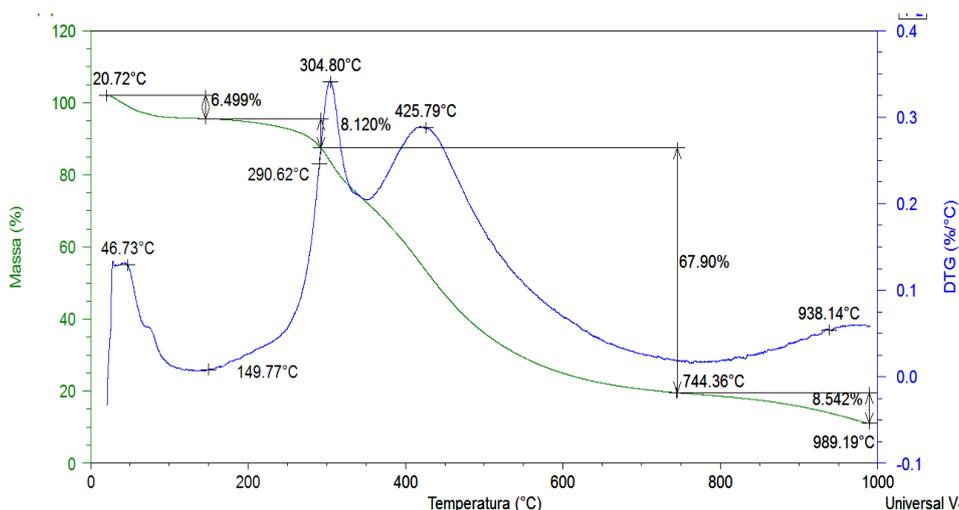
As curvas TG/DSC do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos mostradas na Figura 29 apresentou três transições, duas endotérmicas e uma exotérmica. A primeira transição está associada a vaporização ocorrendo no intervalo de temperatura entre 22-202 °C; a segunda transição é referente a degradação oxidativa da hemicelulose e celulose ocorrendo entre 202-365 °C; a terceira transição ocorreu entre 365-992 °C referente a degradação oxidativa da celulose e lignina. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 23.

Tabela 23: Dados obtidos na curva DSC do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos

Amostra	Transições	Intervalo de Temperatura (°C)	Temperatura de Pico (°C)	Atribuições
Sorgo sacarino pré-tratado com NaOH e livre de extrativos	1	22-202	45	Endotérmico, referente a vaporização
	2	202-365	338	Endotérmico, referente a decomposição
	3	365-992	392	Exotérmica, referente a degradação oxidativa

A Figura 30 apresenta as curvas TG/DTG referente ao comportamento térmico do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH seguido de pré-tratamento com ácido sulfúrico.

Figura 29 : Curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, obtidas em atmosfera de N₂ com razão de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000 °C.



Analisando as curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, presentes na Figura 30, observa-se uma primeira etapa de perda de massa ocorrendo entre 21 - 150 °C, sendo característico da desidratação do material, indicando uma perda de massa de 6,5%. A segunda etapa de perda de massa ocorre entre 150 - 290°C, caracterizando a decomposição da hemicelulose indicando 8,12% de perda de massa. Na terceira etapa do gráfico ocorre a decomposição da celulose e lignina entre 290 - 745 °C, indicando 67,90% de perda de massa, e entre 745-989 °C ocorre a última etapa de perda de massa referente a decomposição da lignina, gerando 8,54% de perda de massa. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 24.

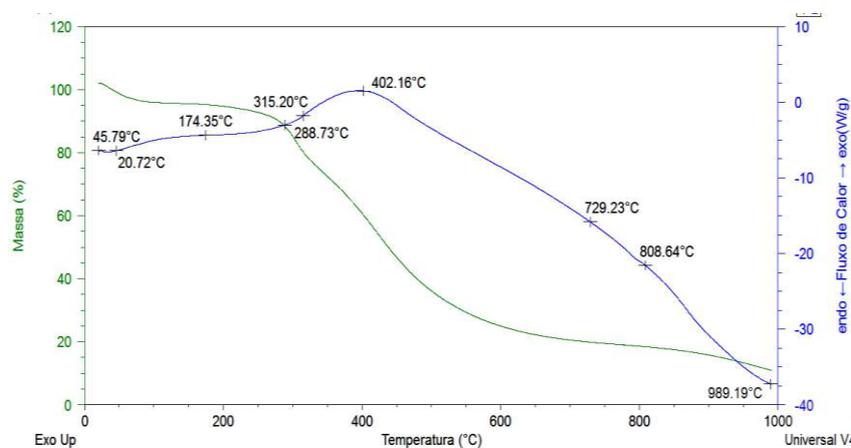
Tabela 24: Dados obtidos nas curvas TG/DTG do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido

Amostra	Etapas	Intervalo de Temperatura (°C)	Temperatura de Pico (°C)	Perda de Massa		Atribuições
				(mg)	(%)	
Sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido	1	21-150	47	0,26	6,5	Desidratação
	2	150-290	279	1,14	8,12	Decomposição da hemicelulose
	3	290- 744	425	2,78	67,9	Decomposição da celulose e lignina
	4	744-989	938	0,33	8,5	Decomposição da lignina

Analisando os dados contidos na Tabela 24, observa-se um somatório referente as perdas de massa de 91,02%, restando 8,9%, percentual esse referente ao resíduo, característico das cinzas, correspondendo a 0,36 mg da massa inicial.

Também foi realizado a análise da calorimetria exploratória diferencial (DSC) do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, e com o auxílio do Software TA Universal Analysis©, pôde-se identificar as transições ocorridas na amostra do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, identificando as variações de entalpia, endotérmica ou exotérmica, ou seja, se houve absorção ou liberação de energia em cada umas das transições ocorridas. A curva TG/DSC para o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido se encontra na Figura 31.

Figura 30 : Curva TG/DSC do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido



As curvas TG/DSC do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido mostradas na Figura 31 apresentou quatro transições, duas endotérmicas e duas exotérmicas. A primeira transição endotérmica está associada a vaporização ocorrendo no intervalo de temperatura entre 21-174 °C; a segunda transição também endotérmica refere-se a decomposição da hemicelulose ocorrendo entre 174-315 °C; a terceira transição ocorreu entre 315-729 °C referente a degradação oxidativa da celulose e lignina, sendo esta transição exotérmica e a última transição também exotérmica ocorreu entre 729-989 °C, referindo-se a degradação oxidativa da lignina. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 25.

Tabela 25: Dados obtidos da curva DSC do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido

Amostra	Transições	Intervalo de Temperatura (°C)	Temperatura de Pico (°C)	Atribuições
Sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido	1	21-174	46	Endotérmico, referente a vaporização
	2	174-315	288	Endotérmico, referente a decomposição
	3	315-729	402	Exotérmica, referente a degradação oxidativa
	4	729-989	808	Exotérmica, referente a degradação oxidativa

5.3.4. Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas do sorgo sacarino *in natura*, do sorgo sacarino pré-tratado básico e do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, foram avaliadas através da deformação (mm), da tensão máxima (N/mm²) suportada pelos corpos-de-prova até a ruptura, pela resiliência (N/mm²) cuja mede a absorção de energia de material até a zona elástica e pelo módulo de resistência a flexão (Mpa).

Com o auxílio do Software TAPEZIUM X, acoplado ao equipamento AUTOGRAF AG-X da SHIMADZU, foi possível gerar curvas de tensão (Mpa) x deformação (mm/mm), e através dessas curvas realizar os devidos cálculos. Os dados referentes aos ensaios de resistência a flexão, estão presentes da Tabela 26.

Tabela 26: Dados referentes ao ensaio de resistência a flexão

Corpos de Prova	Sorgo <i>in natura</i>	Sorgo pré-tratado básico	Sorgo pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido
F_{máx} (N)	7,75± 0,55	23,18 ±1,34	34,11 ±1,77
Deformação (mm)	2,23 ±0,13	3,32 ±0,24	3,38 ±0,21
Tensão_{máx} (N/mm²)	690,82 ±5,18	1162,65± 15,87	3363,37± 25,98
*MRF (MPa)	0,28±0,045	2,1±0,33	2,4±0,29
Resiliência (N/mm²)	3,32 ±0,44	14,45 ±1,12	16,52 ±1,45

*MRF: Módulo de Resistência a Flexão

Analisando os dados presentes na Tabela 26, observa-se que a carga máxima suportada pelos corpos-de-prova foi para os corpos-de-prova moldados com o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, atingindo 34,11 N, valor bem superior aos corpos-de-prova moldados com o sorgo sacarino *in natura*, que atingiram uma carga máxima de 7,75N.

Analisando os dados referentes a tensão máxima suportada pelos corpos-de-prova, chegou-se a 690,82 N/mm² para o sorgo sacarino *in natura*, 1162,65 N/mm² para o sorgo sacarino pré-tratado básico e 3363,37 N/mm² para o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido. O módulo de resistência a flexão também foi

superior para o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido atingindo 2,4 MPa, valor bem próximo ao sorgo pré-tratado básico, 2,1 Mpa, e bem superior ao sorgo sacarino *in natura*, 0,28 Mpa.

Analisando os dados referentes a resiliência do material, observa-se que para o sorgo sacarino *in natura* o valor foi 3,32 N/mm², já para o sorgo pré-tratado básico foi de 14,45 N/mm² e para o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido foi de 16,52 N/mm².

Observa-se que todos os valores analisados através do ensaio de flexão, foram superiores para o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, devido a etapa de pré-tratamento tornar o material mais cristalino, ou seja, a celulose cristalina ficou mais exposta e como a celulose é um polímero, suas fibras ficaram mais alinhadas após as etapas de pré-tratamento, resistindo mais aos esforços mecânicos.

Analisando a deformação máxima que os corpos-de-prova sofreram até o rompimento, verifica-se que para o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido esse valor foi de 3,38 mm, valor superior ao sorgo sacarino *in natura*, cuja deformação máxima foi de 2,23 mm, comprovando assim a maior resistência aos esforços mecânicos do sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido.

Os resultados presentes na Tabela 26, corroboram com os resultados apresentados pelas caracterizações químicas, granulométricas, morfológicas e térmicas.

Através das etapas de pré-tratamentos houve redução no tamanho da partículas, aumento assim a área superficial e conseqüentemente havendo uma maior compactação das partículas no momento de conformação dos corpo-de-prova, resultando assim numa maior resistência mecânica, devido ao menor número de poros e vazios. As caracterizações químicas evidenciam um aumento no teor de alfa celulose de 32,75% para o sorgo *in natura*, para 66,15% para o sorgo sacarino pré-tratado básico e de 54,99% para o sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, ou seja, a parte cristalina da celulose ficou mais exposta contribuindo para um aumento na resistência mecânica.

Comparando a caracterização química do sorgo pré-tratado básico e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, verifica-se que para o sorgo pré-tratado básico o teor de alfa-celulose é maior, porém sua resistência a flexão é menor, quando

comparado ao sorgo sacarino pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, podendo ser explicado pelo percentual de lignina na matriz, cujo para o pré-tratado básico o percentual de lignina é de 5,31% e do pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido é 15,12%. A lignina atua como uma cola na matriz lignocelulósica, logo no material pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido além de apresentar um alto teor de celulose cristalina, apresenta um percentual mais elevado de lignina o que contribui para o aumento de sua resistência mecânica.

Luz et al., (2006), estudando as propriedades mecânicas de compósito de PP (polipropileno) reforçados com a celulose do bagaço e da palha de cana-de-açúcar, obteve um módulo resistência à flexão de 28 MPa, para o polipropileno puro. Já para compósitos de PP com a celulose do bagaço nos percentuais de 20 e 30% os módulos de resistência a flexão foram 37 e 43 MPa, respectivamente. Para os compósitos de PP com a celulose da palha da cana-de-açúcar nos percentuais de 20 e 30% os módulo de resistência flexão foram de 37,8 e 41,9%, respectivamente. Os resultados encontrados por Del`Arco Jr et al., (2006), corroboram com os resultados encontrados neste trabalho, evidenciando que quanto maior o percentual de celulose na matriz, maior serão os valores das propriedades mecânicas. Foi verificado também por esses autores através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) que as fibras apresentavam tamanhos diferentes e distribuição aleatória dentro da matriz, fato esse que foi comprovado neste trabalho através das análises granulométricas.

Sanchez et al.,(2010) estudando resinas de poliéster insaturado com bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e deslignificado com NaOH a 10% (m/V) a temperatura ambiente por 5 horas, realizaram ensaio de flexão, e obtiveram como resultado um módulo de elasticidade à flexão de 3300 MPa para resina poliéster, já para a resina insaturada com o bagaço de cana sem pré-tratamento o módulo de elasticidade a flexão foi de 3400 MPa e para a resina com o bagaço pré-tratado o valor foi de 4041 MPa.

5.4. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

A hidrólise enzimática foi avaliada a partir da produção de glicose proveniente do sorgo sacarino *in natura* e pré-tratado com NaOH. O processo foi realizado seguindo uma matriz de planejamento experimental do tipo $2^3 + 3$ repetições no ponto central, variando as cargas enzimáticas de 10; 17,5 e 25 FPU/g, a razão entre a massa do bagaço

e solução de extrato enzimático de 2; 3 e 4 % (massa/volume) e rotação do shaker 100; 150 e 200 RPM, conforme descrito no item 4.7.3

Estequiometricamente, para 1g de celulose seca, pode-se obter teoricamente 1,12g de glicose. A Tabela 26, apresenta as quantidades teórica máxima que se pode obter do sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado com NaOH e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento com ácido sulfúrico, nas condições de razão massa de sorgo sacarino/volume de extrato enzimático (g.mL^{-1}), RPM e carga enzimática (FPU/g).

Durante o processo de hidrólise enzimática, a obtenção máxima experimental desse valor dependerá da carga enzimática poder hidrolisar toda a massa contida no volume de extrato, nas condições de temperatura e pH constantes 55 °C e 4,8, respectivamente, condições essas as quais foram realizadas as hidrólise.

A Tabela 27 apresenta as concentrações teóricas de glicose para cada condição trabalhada.

Tabela 27: Concentração teórica de glicose para condição trabalhada, para o sorgo sacarino *in natura*, pré-tratado com NaOH e pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido

Experimento	Concentração de Glicose teórica (mg.L^{-1}) para o sorgo sacarino <i>in natura</i>	Concentração de Glicose teórica (mg.L^{-1}) para o sorgo sacarino pré-tratado básico	Concentração de Glicose teórica (mg.L^{-1}) para o sorgo sacarino pré-tratado com ácido
1	7336	14817	12317
2	7336	14817	12317
3	14672	29568	24635
4	14672	29635	24635
5	7336	14817	12317
6	7336	14817	12317
7	14672	29568	24635
8	14672	29568	24635
9	11004	22176	18476
10	11004	22226	18476
11	11004	22226	18476

Analisando os dados contidos na Tabela 27, observa-se valores iguais de concentração teórica máxima de glicose (mg.L^{-1}) para os experimentos 1 e 2; 3 e 4; 5 e 6; 7 e 8. Essa repetição nos valores se deve ao fato que no experimento 1 e 2 o volume total de solução é 150 mL, sendo que a única diferença é no volume de extrato enzimático, cujo no experimento 1 o volume de extrato é 3,0 mL e no experimento 2 é 7,5 mL, devido ao experimento 1 a carga enzimática ser de 10 FPU/g e no experimento 2 a carga enzimática é 25 FPU/g. Nos experimento 5 e 6 os valores são iguais aos experimento 1 e 2, a única diferença agora está na rotação por minuto (RPM) do aparelho shaker, cujos experimentos 1 e 2 utilizou-se 100 RPM e nos experimento 7 e 8 200 RPM. A mesma explicação serve para os experimentos 3 e 4; e 7 e 8, mudando agora apenas o volume total de solução que é 75 mL. Todos estes dados estão presentes na Tabela 6 localizada no item 4.7.3

A Tabela 28 apresenta os resultados da matriz do planejamento da hidrólise do sorgo sacarino *in natura*, na concentração de glicose quando são avaliados sobre a produção da mesma os efeitos da carga enzimática (FPU/g), da relação massa seca do bagaço do sorgo sacarino *in natura* (g.mL^{-1}), e da rotação por minuto (RPM) do aparelho shaker. As melhores condições obtidas de concentração de glicose foram no tempo de 48 horas.

Tabela 28: Matriz de planejamento da hidrólise enzimática do sorgo sacarino *in natura* na melhor condição (48 horas)

Exp	Carga Enzimática (FPU/g)	Relação massa seca sorgo sacarino <i>in natura</i> /extrato enzimático(g/mL)	RPM	Glicose produzida (mg.L ⁻¹) 48 horas
1	10(-1)	2(-1)	100(-1)	5435,74
2	25(1)	2(-1)	100(-1)	6551,12
3	10(-1)	4(1)	100(-1)	10894,6
4	25(1)	4(1)	100(-1)	11748,9
5	10(-1)	2(-1)	200(1)	8419,71
6	25(1)	2(-1)	200(1)	9893,77
7	10(-1)	4(1)	200(1)	13487,7
8	25(1)	4(1)	200(1)	16713,7
9	17,5(0)	3(0)	150(0)	8893,73
10	17,5(0)	3(0)	150(0)	8287,53
11	17,5(0)	3(0)	150(0)	7837,93

Analisando os dados presente na Tabela 28, verifica-se que a maior concentração de glicose produzida ocorreu no experimento 8, cuja concentração de glicose atingiu 16713,7 mg.L⁻¹, nas condições de 25 FPU.g⁻¹ de carga enzimática, relação massa seca do sorgo sacarino *in natura*/extrato enzimático de 4 g.mL⁻¹ e rotação de 200 RPM. Observa-se que a produção de glicose foi superior a concentração de glicose teórica calculada da Tabela 27, fato este devido que no cálculo da concentração teórica de glicose só considera-se o percentual de celulose encontrada no material, sendo que a hemicelulose possui monômeros de glicose cujos não usados no cálculo teórico devido a não quantificação do mesmo e falta de dados na literatura.

A Tabela 29 apresenta a análise de variância completa para o licor hidrolisado do sorgo sacarino *in natura* no tempo de hidrólise de 48 horas.

Tabela 29: Análise de variância (ANOVA) para o licor hidrolisado do sorgo sacarino *in natura* com 48 horas de hidrólise

Fonte de variação	G.L	Soma quadrática	Média quadrática	F _{cal}	F _{tab}
Regressão	6	96694639,9000	16115773	6,28	6,16
Resíduo	4	10270955,0455	2567739		
Falta de ajuste	2	9710438,3788	4855219		
Erro puro	2	560516,6667	280258,3		
Total	10	106965594,9455			

O modelo estatístico codificado com as variáveis significativas para a produção de glicose (PG) é apresentado pela equação 7.

$$PG \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} = 9832,364 + 833,75CE + 2818R + 1735,5RPM \quad (7)$$

Onde:

PG – Produção de glicose (mg.L⁻¹);

CE – Carga enzimática (FPU.g⁻¹);

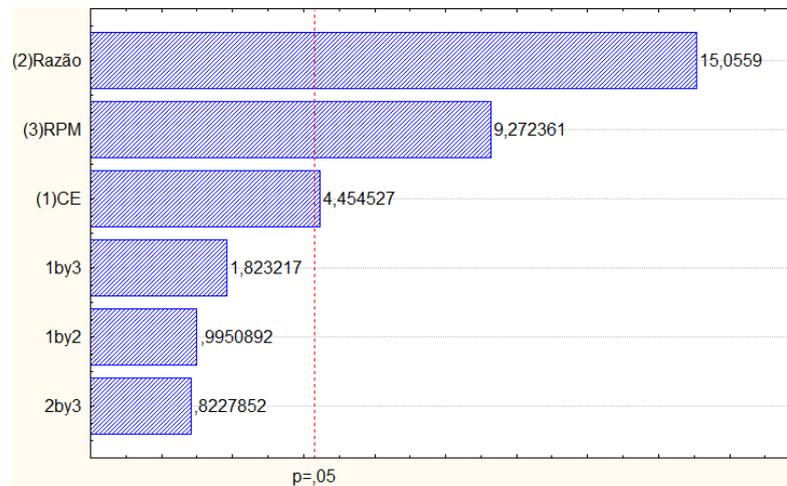
R- Razão massa seca de substrato/volume de extrato (g.mL⁻¹);

RPM- rotações por minuto no shaker

O modelo dos dados apresentados na Tabela 29 tem 90,21% das variações obtidas explicadas pelo modelo e com um valor da razão F_{calculado} e F_{tabelado} de 1,02, indicando que o modelo é estatisticamente significativo, podendo assim afirmar que a carga enzimática (FPU.g⁻¹), a relação massa seca sorgo sacarino *in natura*/extrato enzimático (g.mL⁻¹) e a rotação por minuto no shaker influenciaram a produção de glicose. Quando se aumenta a relação massa seca do substrato/volume de extrato (g.mL⁻¹), a carga enzimática (FPU.g⁻¹) e a rotação do shaker (RPM), ocorre um aumento na concentração de glicose.

O diagrama de Pareto para o processo de hidrólise do sorgo sacarino *in natura* é apresentado na Figura 32.

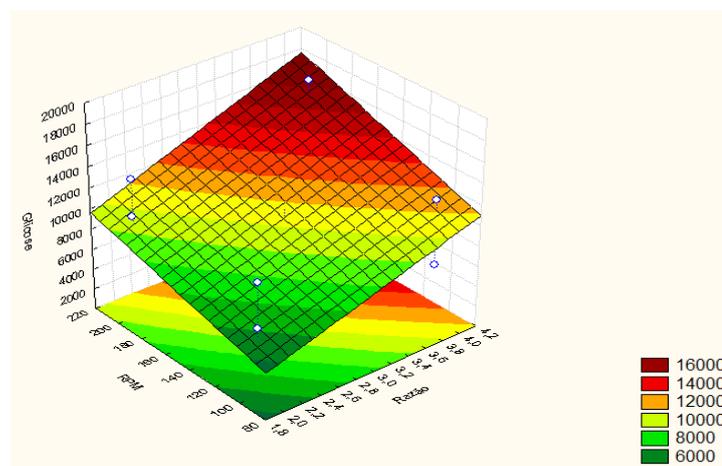
Figura 31 : Diagrama de Pareto para a hidrólise do sorgo sacarino *in natura* em 48 horas



Pode-se afirmar através da Figura 32 que, para a hidrólise enzimática do sorgo sacarino *in natura*, a relação massa seca do sorgo/volume de extrato (mg.L^{-1}), a rotação por minuto do shaker (RPM) e carga enzimática (FPU/g), influenciam no processo aumentando a produção de glicose. Nota-se através do diagrama de Pareto apresentado na Figura 32, que a variável de maior influência no processo é a razão entre a massa seca do substrato/volume de extrato (g.mL^{-1}), seguido do RPM (rotações por minuto) e da carga enzimática (FPU/g). Os dados foram analisados em nível estatístico de 95% de confiança, apresentando um coeficiente de determinação de 90,21%.

A Figura 33 apresenta a superfície de resposta para a variável concentração de glicose do licor obtido da hidrólise enzimática do bagaço do sorgo sacarino *in natura*.

Figura 32 : Superfície de resposta (2^3) para a produção de glicose por hidrólise enzimática do sorgo sacarino *in natura* no tempo de 48 horas



De acordo com a superfície de resposta mostrada na Figura 33, verifica-se que nos intervalos estudados, a maior concentração foi obtida para níveis mais altos da relação massa do substrato/volume de extrato enzimático e da rotação por minuto (RPM).

A Tabela 30 apresenta os resultados da matriz do planejamento da hidrólise do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, na concentração de glicose quando são avaliados sobre a produção da mesma os efeitos da carga enzimática (FPU/g), da relação massa seca do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH (g.mL^{-1}), e da rotação por minuto do aparelho shaker.

As melhores condições obtidas de concentração de glicose foram no tempo de 48 horas.

Tabela 30: Matriz de planejamento da hidrólise enzimática do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH na melhor condição de hidrólise (48 horas)

Exp	Carga Enzimática (FPU/g)	Relação massa seca sorgo sacarino in natura/extrato enzimático(g/mL)	RPM	Glicose produzida (mg.L^{-1}) 48 horas
1	10(-1)	2(-1)	100(-1)	8928,34
2	25(1)	2(-1)	100(-1)	10896,7
3	10(-1)	4(1)	100(-1)	25900,5
4	25(1)	4(1)	100(-1)	25930,6
5	10(-1)	2(-1)	200(1)	10922,9
6	25(1)	2(-1)	200(1)	19629,3
7	10(-1)	4(1)	200(1)	30900,4
8	25(1)	4(1)	200(1)	31639,3
9	17,5(0)	3(0)	150(0)	16465,1
10	17,5(0)	3(0)	150(0)	15345,2
11	17,5(0)	3(0)	150(0)	16892,6

Analisando os dados presente na Tabela 30, verifica-se que a maior concentração de glicose produzida ocorreu no experimento 8, cuja concentração de glicose atingiu $31639,3 \text{ mg.L}^{-1}$, nas condições de 25 FPU.g^{-1} de carga enzimática,

relação massa seca do sorgo sacarino *in natura*/extrato enzimático de 4 g.mL⁻¹ e rotação de 200 RPM.

Através dos dados obtidos na Tabela 30, verifica-se que nos experimentos 7 e 8 as concentrações de glicose obtidas foram praticamente as mesmas. Do ponto de vista industrial seria mais interessante utilizar as condições do experimento 7, ou seja, uma menor carga enzimática devido aos custos elevados das enzimas utilizadas no processo.

A Tabela 31 apresenta a análise de variância completa para o licor hidrolisado do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, no tempo de hidrólise de 48 horas. Os dados foram analisados em nível estatístico de 95% de confiança, apresentando um coeficiente de determinação de 92,74%.

Tabela 31: Análise de variância (ANOVA) para o licor hidrolisado do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, no tempo de hidrólise de 48 horas

Fonte de variação	G.L	Soma quadrática	Média quadrática	F _{cal}	F _{tab}
Regressão	6	604912641,5000	100818774	8,52	6,16
Resíduo	4	47331205,0455	11832801		
Falta de ajuste	2	46058663,0455	23029332		
Erro puro	2	1272542,0000	636271		
Total	10	652243846,5455			

O modelo estatístico codificado com as variáveis significativas para a produção de glicose do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH (PGspt) é apresentado pela equação 8.

$$\text{PGspt (mg.L}^{-1}\text{)} = 19403,36 + 1430,50\text{CE} + 7999,25\text{R} + 2679,50\text{RPM} - 1238,25\text{CER}$$

(8)

Onde:

PGd – Produção de glicose do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH(mg.L^{-1});

CE – Carga enzimática (FPU.g^{-1});

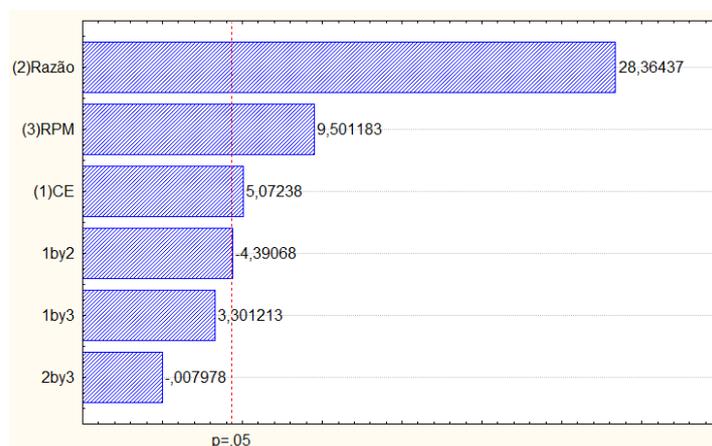
R- Razão massa seca de substrato/volume de extrato (g.mL^{-1});

RPM- rotações por minuto no shaker

O modelo dos dados apresentados na Tabela 31 tem 92,74% das variações obtidas explicadas pelo modelo e com um valor da razão $F_{\text{calculado}}$ e F_{tabelado} de 1,38, indicando que o modelo é estatisticamente significativo, podendo assim afirmar que a carga enzimática (FPU.g^{-1}), a relação massa seca sorgo sacarino pré-tratado básico/extrato enzimático (g.mL^{-1}) e a rotação por minuto no shaker influenciaram a produção de glicose. Quando se aumenta a relação massa seca do substrato/volume de extrato (g.mL^{-1}), a carga enzimática (FPU.g^{-1}) e a rotação do shaker (RPM), ocorre um aumento na concentração de glicose.

O diagrama de Pareto para o processo de hidrólise do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH é apresentado na Figura 34.

Figura 33 : Diagrama de Pareto para a hidrólise do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH em 48 horas

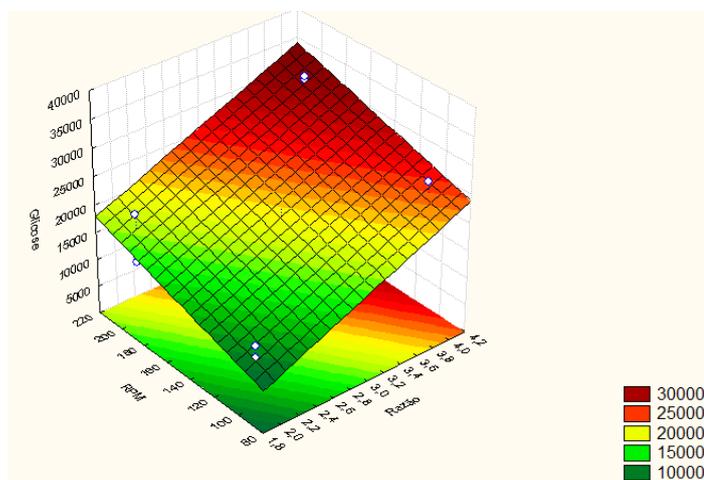


Pode-se afirmar que através do diagrama de Pareto apresentado na Figura 34, para a hidrólise enzimática do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, que a relação massa seca do sorgo/volume de extrato (mg.L^{-1}), a rotação por minuto do shaker (RPM) e carga enzimática (FPU.g^{-1}), influenciam no processo aumentando a produção de glicose. Nota-se através do diagrama de Pareto apresentado na Figura 34, que a variável

de maior influência no processo é a razão entre a massa seca do substrato/volume de extrato (g.mL^{-1}), seguido do RPM (rotações por minuto) do shaker.

A Figura 35 apresenta a superfície de resposta para a variável concentração de glicose do licor obtido da hidrólise enzimática do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH.

Figura 34: Superfície de resposta para a produção de glicose no tempo de 48 horas por hidrólise enzimática do sorgo sacarino pré-tratado com NaOH



De acordo com a superfície de resposta mostrada na Figura 35, verifica-se que nos intervalos estudados, a maior concentração foi obtida para níveis mais altos da relação massa do substrato/volume de extrato enzimático e da rotação por minuto do aparelho shaker (RPM).

6. CONCLUSÕES

- A caracterização química do sorgo sacarino *in natura*, do sorgo pré-tratado básico e do sorgo pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, mostra que é um substrato viável para a produção de açúcares fermentescíveis apresentando 32,75 % de alfa- celulose para o sorgo sacarino *in natura* e de 66,15 % para o sorgo pré-tratado com NaOH e de 54,99 % para o sorgo pré-tratado básico seguido de pré-tratamento ácido, evidenciando que as etapas de pré-tratamento são eficientes na remoção de lignina e hemicelulose, favorecendo assim a etapa de hidrólise enzimática.
- A utilização da metodologia do planejamento experimental para o processo de deslignificação com NaOH, permitiu observar a melhor condição de operação na faixa estudada, da etapa de pré-tratamento básico ocorrendo na temperatura de 140 °C, tempo de 120 minutos e concentração de NaOH de 4% (m/V) com um rendimento de 57,62 % para o sorgo sacarino *in natura* e de 57,85 % para o bagaço livre de extrativos;
- Através da etapa de pré-tratamento básico seguido de pré-tratamento ácido, verificou-se que no melhor rendimento observado através da matriz de planejamento fatorial houve a hidrólise de parte da celulose presente no material reduzindo seu percentual de 66,15 % para 54,99 %.
- As análises de DRX, observou-se que houve mudança na cristalinidade do material após as etapas de pré-tratamento, assim como através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) verificou-se mudanças na morfologia do material.
- A análise termogravimétrica e calorimétrica exploratória diferencial mostrou que houve mudança nos picos de perda de massa e temperaturas relacionados a celulose, lignina e hemicelulose, mostrando que houve redução nos seus teores devido as etapas de pré-tratamento;

- Através do ensaio de resistência à flexão verificou-se que as etapas de pré-tratamento também influenciam nas propriedades mecânicas do material lignocelulósico.
- Na hidrólise enzimática o resultado foi significativo obtendo-se uma concentração de glicose de $16713,7 \text{ mg.L}^{-1}$ para o sorgo sacarino *in natura* e de $31639,3 \text{ mg.L}^{-1}$ para o sorgo sacarino pré-tratado com NaOH, evidenciando que a etapa de pré-tratamento aumentou o percentual de alfa-celulose e conseqüentemente a concentração de glicose na etapa da hidrólise.

REFERÊNCIAS

Brasileira de Normas Técnicas. NBR 7181: Solo - Análise Granulométrica, 1984.

ABRANTES, S. Avaliação de corantes artificiais em bebidas não alcoólicas e não gaseificadas. **Revista Analytica**, n. 27, p. 30-33, 2007.

AGBOR, V.B; CICEK, N; SPARLING, R.; BERLIN, A.; LEVIN, D.B. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. **Biotechnology Advances**, vol.29, n.6, p. 675-685, 2011.

AGUIAR, C.M. Hidrólise enzimática de resíduos lignocelulósicos utilizando celulases produzidas pelo fungo *Aspergillus Níger*.: UNIOESTE. Dissertação (Mestrado). 2010.

AIE – Agência Internacional de Energia From 1st- to 2nd- generation biofuel technologies. OECD/IEA, Paris, 2008.

ALVIRA, P; TOMAS-PEJO, E; BALLESTEROS, M; NEGRO, M.J. Pre-treatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, vol.101, p.4851-4861, 2010.

BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conversion and Management**, vol.52, p.858-875, 2011.

BANTILAN, M.C.S.; DEB, U.K.; GOWDA, C.L.L.; REDDY, B.V.S.; OBILANA, A.B.; EVENSON, R.E. Sorghum genetic enhancement: research process, dissemination and impacts. **International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics**, 2004.

BARCELOS, C.A. Aproveitamento das frações sacarínea, amilácea e lignocelulósica do sorgo sacarino [*sorghum bicolor* (L.) moench] para produção de bioetanol. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Tese (Doutorado), 2012.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. Planejamento e otimização de experimentos. 2^a Ed. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 299p, 1996,

BASSAM, N. Handbook of bioenergy crops – A complete reference to species, development and applications. Earthscan, 2010.

CAMPOS, D.B.C; hidrólise enzimática do bagaço deslignificado do pedúnculo do caju (*anarcadium occidentale* lineu) para produção de bioetanol. UFCG. Dissertação e mestrado, 2011.

CANILHA, L.; MILAGRES, A M. F.; SILVA, S. S.; ALMEIDA E SILVA, J. B.; MARIA G.A.FELIPE, CARVALHO,W. A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid. Jounal of Industrial Microbiology & Biotechnology, vol 38, p.1467-1475, 2011

CARROLL, A.; SOMERVILLE, C. Cellulosic Biofuels. **Annual Review of Plant Biology**, vol.60, p.165-182, 2009.

CASTRO, A.M; PEREIRA JUNIOR, N.P. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Revista Química Nova**, vol.33, n.1, p.181-188, 2010.

CASTRO, L.B.B.N.; OLIVEIRA, L.A.; MOREIRA, R.F. et al. Bagaço da cana-de-açúcar para alimentação de ruminantes. **PUBVET**, vol.2, n.30, 2008.

CASTRO, P.F; BARBOSA, L.D.F.O; CANILHA, L; CARVALHO, W. Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar extraído com água, etanol e água seguida de etanol. Escola de Engenharia de Lorena – EEL USP – 2008b.

CHANG, V.S.; HOLTZAPPLE, M.T. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. Applied Biochem. **Biotechnology**. vol.86, p.5-37, 2000.

CHENG, J.J; TIMILSINA, G.R. Status and barriers of advanced biofuel technologies: A review. **Renewable Energy**, vol.36, n.12, p.3541-3549, 2011.

CHIACCHIO, F. B.; MESQUITA, A. S.; SANTOS, J. R. Palma forrageira: uma oportunidade econômica ainda desperdiçada para o semi-árido baiano. Bahia Agrícola, v.7, n.3, p.39-49, 2006.

CUNHA, J. A., PEREIRA, M. M., VALENTE, L. M. M., PISCINA, P. R. de la, HOMS, N., SANTOS, M. R. L. Waste biomass to liquids: Low temperature conversion of sugarcane bagasse to bio-oil. The effect of combined hydrolysis treatments, **Biomass and Bioenergy**, 35, p. 2106-2116, 2011.

CUNHA, S.P; FILHO, W.A.S. Avanços tecnológicos na obtenção de etanol a partir de Sorgo Sacarino (*sorghum bicolor (l.) moench*). **Revista: Tecnológica**, vol.14, n.2, p.69-75, 2010.

DIHMAN, S.S.; HAW, J.R.; KALYANI, D.; KALIA, V.C.; KANG, Y.C.; LEE, J.K. Simultaneous pretreatment and saccharification: Green technology for enhanced sugar yields from biomass using a fungal consortium. **Bioresource Technology**, vol.179, p.50-57, 2015.

DOMINGOS, M.C.P; GONÇALVES, L.C; RODRIGUES, J.A.S; RODRIGUEZ, N.M; BORGES, I. Análise de Vinte Genótipos de Sorgo (*Sorghum bicolor L. Moench*), de Portes Médio e Alto, Pertencentes ao Ensaio Nacional. **Revista Brasileira de zootecnia**, vol. 29, n.4, p.978-987, 2000.

DUBEUX JÚNIOR, J. C. B.; ARAÚJO FILHO, J. T.; SANTOS, M. V. F.; LIRA, M. A.; SANTOS, D. C.; PESSOA, R. A. S. Adubação mineral no crescimento e composição mineral da palma forrageira –Clone IPA-201. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.5, n.1, p.129-135, 2010.

DUFF, S. J. B.; MURRAY, W. D. Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: A review. *Bioresource Technology*, v.55, p.1–33, 2006.

EMBRAPA MILHO E SORGO. Inserção e Expansão do Sorgo Sacarino para Produção Agroindustrial de Etanol 1G Âmbito do Plano Agrícola e Pecuário, 2013. Disponível em:

http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Acucar_e_alcool/23RO/23%C2%AA%20RO_%20Sorgo_Embrapa.pdf>. Acesso em: 18 de novembro de 2014.

FAS - Foreign Agricultural Service. United State Department of Agriculture. 2011. World Agricultural Production. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/wap/circular/2011/11-01/productionfull01-11.pdf>>. Acesso em: 18 de novembro, 2014.

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

FUENTES, L.L.G. Determinação de dados cinéticos da deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar e da hidrólise enzimática no pré-tratamento com hidróxido de cálcio. Unicamp. Dissertação (Mestrado). 2009.

GALBE, M.; ZACCHI, G. Produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos – Bietanol de cana-de-açúcar: PeD para produtividade e sustentabilidade. Blucher: São Paulo, Cap.12, p.697-716, 2010.

GARCIA, A.; ALRIOLS, M.G.; LABIDI, J. Evaluation of different lignocellulosic raw materials as potential alternative feedstocks in biorefinery processes. **Industrials Crops and Products**, vol.53, p.102-110, 2014.

GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities. New Delhi: Indian Institute of Technology, 1987.

GOUVEIA, E.R; MAIOR, A.M.M; SANTOS, J.R.A. Comparação entre processos em shf e em ssf de bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol por *Saccharomyces cerevisiae*. Química nova, v. 33, n. 4, p.904-908, 2010.

HAHN-HAGERDAL, B.; GALBE, M.; GORWA-GRAUSLUND, M.F.; LÍDEN, G; ZACCHI, G. Bio-ethanol the fuel of tomorrow from the residues of today. **Trends in Biothecnolgy**, vol.24, 2006.

HEIKKINEN, J. M.; HORDIJK, J.C; JONG, W; SPLIETHOFF,H. Thermogravimetry as a tool to classify waste components to be used for energy generation. **Jornal of Analytical and Applied Pyrolysis**, vol 71, p. 883-900, 2004.

HENDRIKS, A.T.W.M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresour. Technol.** vol, 100, p.10–18, 2009

HIMMEL, M.E.; DING, S.Y.; JOHNSON, D.K.; ADNEY, W.S.; NIMLOS, M.R.; BRADY, J.H.; FOUST, T.D. Biomass recalcitrance: Engineering Plants and enzymes for Biofuels Productions. **Science**, vol.315, p.804-807, 2007.

JORGENSEN, H.; KRISTENSEN, J.B.; FELBY, C. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. **Biofuels Bioprod. Biorefining**, vol.1, p.119–134, 2007.

KOHLHEPP, G. Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estud. av.**, vol.24, n.68, p.223-253, 2011.

KRISHNA S. H.; RAO, K. C. S.; BABU, J. S.; REDDY, D. S. Studies on the production and application of cellulose from *Trichoderma reesei* QM-9414. *Bioprocess Engineering*, 22, p. 467-470, 2000.

KUMAR, P.; BARRETT, D.M.; DELWICHE, M.J.; STROEVE, P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, vol.48, p.3713-3729, 2009.

LI, X.F.; HOU, S.L.; SU, M.; YANG, M.F.; SHEN, S.H.; JIANG, G.M. et al. Major energy plants and their potential for bioenergy development in China. **Environ. Manag.**, vol.46, p.579–589, 2010.

LIMA, A. M. Estudos recentes e perspectivas da viabilidade técnico – econômica da produção de etanol lignocelulósico. 1 ed. Brasília: Embrapa Agroenergia, 10 p., 2011.

LIMA, A. O. S.; Rodrigues, A. L. Sacarificação de resíduos celulósicos com bactérias recombinantes como estratégia para redução do efeito estufa. *Revista de ciências ambientais*, v.1 (2), p. 5-18, 2007.

LUZ, S.M ;; GONÇALVES,A.R; DEL`ARCO JR,A.P. Microestrutura e Propriedades Mecânicas de Compósitos de Polipropileno Reforçado com Celulose de Bagaço e Palha de Cana. **Revista Matéria**, vol 11, n.2, p.101-110, 2006.

MARABEZI, K. Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de Lignina e Holocelulose em amostras de Bagaço e Palha da cana-de-açúcar. Instituto de Química de São Carlos, USP. Dissertação (Mestrado), 2009.

MARTINS, L.F. Caracterização do complexo celulásico de *Penicillium echinulatum*. Universidade Federal do Paraná. Dissertação(Mestrado), 2005.

MIRANDA, M.R.S. Bagaço do Sorgo: estimativa de parâmetros cinéticos e pirólise analítica. Universidade Federal de Uberlândia. Dissertação(Mestrado), 2011.

MORAIS, J.P.S; ROSA, J.M; MARCONCINI, M. F. Procedimentos para análise lignocelulósica. Campina Grande: Embrapa Algodão, Documentos, v.236, 54 p, 2010.

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

NASCIMENTO, V.M. Pré-Tratamento alcalino (NaOH) do bagaço da cana-de-açúcar para a produção de etanol e obtenção de xilooligômeros. UFSCar. Dissertação (Mestrado). 2011.

OHGREN, K.; BURA. R.; SADDLER, J.; ZACCHI, G. Effect of hemicelluloseand lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover. **Bioresource Technology**, vol.98, p.2503–2510, 2007.

OJUMU, T.V.; SOLOMON, B.O.; BETIKU, E.; LAYOKUN, S.K.; AMIGUN, B. Cellulase production by *aspergillus flavus* linn isolate nspr 101 fermented in sawdust, bagasse and corncob. **African journal of biotechnology**, vol. 2, n. 6, p.150–152, 2003.

OLIVEIRA, F. M. V. Avaliação de diferentes pré-tratamentos e deslignificação alcalina na sacarificação da celulose de palha de cana. Dissertação (Mestrado em Ciências) Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 98 p, 2011.

OLIVEIRA, I.K.C.P.; SILVA, H.; CONRADO, L.S.; SILVA, F.L.H. Caracterização físico-químico do bagaço do Sorgo Sacarino(*Sorghum bicolor*) para hidrólise ácida do material lignocelulósico. **Cobeic**, 2009.

ÓRFÃO, J. J. M.; FIGUEIREDO, J. L.; *Thermochim. Acta* **2001**, 380, 67.

PACHECO, T.F; MENDES, T.D; CARVALHO, F.B.P; RODRIGUES, D.S; MACHADO, M.M; AYRES, M. Avaliação do Potencial de biomassas na produção de etanol lignocelulósico. Congresso Brasileiro de Engenharia Química. 2012.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates, II: inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresour Technol**, vol.74, p.25 -33, 2000.

PAN, X.; XIE, D.; GILKES, N.; GREGG, D.J.; SADDLER, J.N. Strategies to enhance the enzymatic hydrolysis of pretreated softwood with high residual lignin content. Appl. Biochem. Biotechnol. – Part A Enzyme Eng. **Biotechnol.**, vol.124, p.1069–1079, 2005.

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**, vol.35, p.7738-7747, 2010.

PEREIRA, A.L.S; CORDEIRO, E.M.S; NASCIMENTO, D.M; MORAIS, J.P.S; SOUSA, M.S.M; ROSA, M.F. Extração e caracterização de nanocelulose de fibras do pseudocaule da bananeira. **V CONNEPI - Congresso Norte-Nordeste de Pesquisa e Inovação**, 2010.

PEREIRA, V.R.; COSTA, S.S.; ROCHA, S.C.S. Análise do crescimento da celulose microcristalina granulada em leito vibrofluidizado. In Congresso brasileiro de engenharia química em iniciação científica, Anais, 2009.

PEREIRA JUNIOR, N. Biomassas residuais de composição lignocelulósica para a produção de etanol e o contexto de refinaria. 2007.

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. Dissertação (Mestrado). 2012

PIRES, A.J.V.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Degradabilidade do bagaço de cana-de-açúcar tratado com amônia anidra e, ou, sulfeto de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol.33, p.1071-1077, 2004.

RABELO, S. C. Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar. Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. Dissertação (Mestrado). 2007

RAJARATHNAM, S.; SHASHIREKA, M.N.; BANO, Z. Biopotentialites of the basidiomycetes. **Advances in Applied Microbiology**, vol.37, p.223-361, 1992.

RIBAS, P.M. Sorgo: introdução e importância econômica. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2003. 16 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 26.)

RIBEIRO FILHO, N.M.; FLORÊNCIO, I.M.; ROCHA, A.S.; DANTAS, J.P.; FLORENTINO, E.R.; SILVA FLHO. Aproveitamento do caldo do sorgo sacarino para produção de aguardente. **R. Bras. de Prod. Agroindus**, vol.1, p.9- 16, 2008.

ROBERTS, C.A.; HOUX, J.H.; FRITSCHI, F.B. Near-infrared analysis of sweet sorghum bagasse. **Crop Sci.**, vol.51, p. 2284–2288, 2011.

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**, vol.44, p.123-128, 2010.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. Planejamento de experimentos e otimização de processos. 1ª Ed. Campinas, SP: Editora Casa do Pão, 326p, 2005.

RUEDA, S.M.G. Pré-Tratamento e Hidrólise Enzimática do Bagaço de Cana-de-açúcar. Unicamp. Dissertação (Mestrado), 2010.

SAAD, M.B.W. Avaliação técnica e econômica preliminar da produção de etanol via hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar. Universidade de São Paulo. Dissertação (Mestrado). 2010.

SABALLOS, A. Development and utilization of sorghum as a bioenergy crop. *In: Genetic improvement of bioenergy crops*, Vermerris W., Springer: New York, cap. 8, p. 211-248, 2008

SANCHEZ, E.M.S; CAVANI,C.S; SANCHEZ,C.V.L. Compósito de Resina de Poliéster Insaturado com Bagaço de Cana-de-Açúcar: Influência do Tratamento das Fibras nas Propriedades. **Polímeros**, vol 20, n.3, p. 194-200, 2010.

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

SANTOS, M,L; LIMA, O.J; NASSAR, E,J; CIUFF, K,J; CALEFI, P,S. Estudo das condições de estocagem do bagaço de cana-de-açúcar por análise térmica. **Revista Matéria**, vol 34, n.3, p. 507-511, 2011b.

SANTOS, F.G. Culturas com potencial para produção de álcool no Rio Grande do Sul: Sorgo Sacarino. Simpósio Estadual de Agroenergia. 2007.

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

SAVEGNAGO, C.L; MUNIZ, L.A.R; MUNIZ, A.R.C. Deslignificação do Capim Elefante para Produção de Álcool. XVII encontro de jovens pesquisadores. Universidade de Caxias do Sul, 2009.

SILVA, V. F. N. Estudo de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapa no processo de obtenção de etanol celulósico. 116 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2011.

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

STAMATELATOU, K.; ANTONOPOULOU, G.; NTAIKOU, I.; LYBERATOS, G. The effect of physical, chemical, and biological pretreatments of biomass on its anaerobic digestibility and biogas production. In: Mudhoo A, editor. Biogas production: pretreatment methods in anaerobic digestion. NJ, Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, p. 55-90, 2012.

STAMBUK, B.U.; ELEUTHERIO, E.C.A.; FLOREZ-PARDO, L.M.; SOUTO-MAIOR, A.M.; BON, E.P. Brazilian potential for biomass ethanol: challenge of using hexose and pentose cofermenting yeast strains. **Journal of Science of Industrial Research**, vol.67, p.918- 926, 2008.

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

TAHERZADEH, M.J.; KARIMI, K. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, vol.9, p.1621-1651, 2008.

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. **Bioresource**, vol.2, n.3, p.472-499, 2007.

TAMANINI, C.; HAULY, M.C.O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. **Semina: Ciências Agrárias**, vol.25 , n.4, p. 315-330, 2004.

TAVARES, S.R.L.; SANTOS, T.E. Uso de diferentes fontes de biomassa vegetal para produção de biocombustíveis sólidos. **Revista Holos**, vol.5, n.29, 2013.

TEIXEIRA, C.G.; JARDINE, J.G.; BEISMAN, D.A. Utilização do Sorgo Sacarino como matéria-prima complementar a cana-de-açúcar para obtenção de etanol em microdestilaria. **Cienc. Tecnol. Alim.**, vol.17, n.3, p.248-251, 1997.

THYGESEN, A.; ODDERSHEDE, J.; LILHOLT, H.; THOMSEN, A. B.; STAHL, K. On the determination of crystallinity and cellulose content in plant fibres. **Cellulose**, vol.12, p.563-576, 2005.

TOMAS-PEJO, E.; OLIVA, J.M.; BALLESTEROS, M. Realistic approach for full-scale bioethanol production from lignocellulose: a review. **Journal of Scientific & Industrial Research**, vol.67, p.874-888, 2008.

WOOD, T.M.; BHAT, K.M. Methods for measuring cellulase activities. In W. A. WOOD AND S. T. KELLOG. *Methods in enzymology*. California: Academic Press, vol. 160, p.87-116, 1988.

USDA - United State Department of Agriculture. **USDA Agricultural Projections to 2020**. Long-term Projections Report OCE, p.1-100, 2011.

VASCONCELOS, R.F. Estudo da cinética de deslignificação organossolve do caroá (Neoglazioviavariegata). Dissertação de mestrado. Campina Grande UFCG, 2011.

YU, Q., ZHUANG, X., LV, S., HE, M., ZHANG, Y., YUAN, Z., QI, W., WANG, Q., WANG, W., TAN, X. Liquid hot water pretreatment of sugarcane bagasse and its comparison with chemical pretreatment methods for the sugar recovery and structural changes, **Bioresource Technology**, 129, p. 592–598, 2013.

ZHENG, Y.; ZHAO, J.; XU, F.; LI, Y. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and combustion science**, vol.42, p.35-53, 2014.

ZHAO, X.B.; WANG,L.; LIU,D.H. Peracetic acid pretreatment of sugarcane bagasse of enzymatic hydrolysis: a continued work. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology** , vol.83, p.950-956, 2008.