



Universidade Federal de Uberlândia

Faculdade de Engenharia Química

Programa de Pós Graduação em Engenharia Química



**AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO AGROINDUSTRIAL DO SORGO
SACARINO VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL**

Gislaine Fernandes

Uberlândia - MG

2014



Universidade Federal de Uberlândia

Faculdade de Engenharia Química

Programa de Pós Graduação em Engenharia Química



**AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO AGROINDUSTRIAL DO SORGO
SACARINO VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL**

Gislaine Fernandes

Orientadora: Dra. Vicelma Luiz Cardoso (UFU)

Co-orientador: Rafael Augusto da Costa Parrella(EMBRAPA Milho e Sorgo)

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Engenharia Química, área de concentração em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos.

Uberlândia - MG

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG - Brasil

F363a Fernandes, Gislaine, 1981-
2014 Avaliação e caracterização agroindustrial do sorgo sacarino visando a produção de etanol / Gislaine Fernandes. - 2014.
198 f. : il.

Orientador: Vicelma Luiz Cardoso.
Coorientador: Rafael Augusto da Costa Parrella.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.
Inclui bibliografia.

1. Engenharia química - Teses. 2. Sorgo sacarino - Teses. 3. Álcool - Teses. 4. Fermentação - Teses. I. Santos, Vicelma Luiz. II. Parrella, Rafael Augusto da Costa. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

CDU: 66.0

TESE DE DOUTORADO DE GISLAINE FERNANDES SUBMETIDA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR
EM ENGENHARIA QUÍMICA, EM 03/06/2014.

BANCA EXAMINADORA:



Profº. Drº. Vicelma Luiz Cardoso
(Orientadora - PPGEQ/UFU)



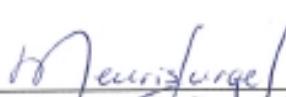
Dr. Rafael Augusto da Costa Parrella
(Co-orientador – Embrapa Milho e Sorgo)



Profº. Drº. Claudia Maria Tomás Melo
(IFTM – Campus Uberlândia)



Prof. Dr. Eloízio Júlio Ribeiro
(PPGEQ/UFU)



Profº. Drº. Meuris Gurgel Carlos da Silva
(PPG-FEQ/UNICAMP)



Drº. Carla Zanella Guidini
(PNPD/UFU)

*“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei;
não fosse por elas, eu não teria saído do lugar.
As facilidades nos impedem de caminhar”.*

Chico Xavier

Dedicatória

*Dedico este doutorado a a minha mãe querida, Aparecida Patussi,
pela dedicação incondicional em mais um capítulo da minha vida e apoio em todas
as minhas escolhas e decisões, sempre me ensinando a perseguir meu ideal
com dedicação e muita coragem.*

*Esta vitória é **nossa!!!***

Muito Obrigada!!!

AGRADECIMENTOS

Escrever uma Tese do Doutorado é uma experiência enriquecedora e de plena superação. Modificamo-nos a cada tentativa de buscar respostas às nossas aflições de ‘pesquisador’. Mais do que um trabalho individual, esta Tese é o resultado da colaboração e contributos de várias pessoas num processo que foi tudo, menos solitário. Para aqueles que compartilham comigo este momento, que só se tornou realizável graças à contribuição, direta ou indireta de cada um... são essas pessoas que gostaria de agradecer:

Em primeiro lugar ao Pai, pela minha vida e pela paz nos momentos em que me encontrei incapaz de prosseguir.

A toda minha família, em especial a minha mãe, e meus irmão: Leonardo Fernandes e Rodrigo Fernandes, pelo estímulo e apoio incondicional desde o primeiro momento, pela paciência, pela compreensão em muitas ausências, pela grande amizade com que sempre me ouviram e sensatez com que sempre me ajudaram.

À minha Orientadora, Professora Dr^a Vicelma Luiz Cardoso, pela sua disponibilidade sempre e a qualquer momento, o apoio e força prestados em todas as fases deste projeto. As suas críticas, discussões e reflexões foram fundamentais ao longo de todo o percurso. Com ela aprendi muito mais do que teorias, aprendi a ser múltipla em tudo que faço. Eternamente grata por todo o seu apoio.

À EMBRAPA Milho e Sorgo por intermédio do pesquisador Dr. Rafael Augusto Costa Parrella, por possibilitar o desenvolvimento deste trabalho, além da amizade, confiança, apoio e ajuda valiosa na concretização deste trabalho.

A professora Dr^a Miriam Maria de Rezende e ao professor Dr. Ubirajara Coutinho Filho, por todo o seu saber, pelos seus conselhos e especialmente pela paciência e simpatia com que sempre me receberam.

Gostaria de agradecer aos demais professores da FEQUI, em especial ao professor Dr. Eloízio Júlio Ribeiro, pela ajuda prestada e pelo carinho pelo qual sempre me tratou desde o período de graduação.

Ao amigo, professor e atual Diretor Geral do Instituto Federal do Triângulo Mineiro - Campus Uberaba, Rodrigo Afonso Leitão, por toda sua compreensão, conselhos e liberações cedidas sempre que precisei para o desenvolvimento deste trabalho, desde o início da minha trajetória no IFTM (Campus Ituiutaba), onde este trabalho também iniciou-se.

Ao atual Pró-reitor de Administração do IFTM, Marco Antônio Maciel Pereira, por toda força e também liberações cedidas durante a realização deste projeto, em que esteve como diretor geral e diretor de ensino no IFTM-Campus Ituiutaba, e também por proporcionar todas as condições de infraestrutura necessárias ao Campus Ituiutaba para que o plantio do sorgo sacarino fosse realizado naquele Campus.

A todos os professores e coordenadores da área de química do IFTM, do Campus Ituiutaba e Uberaba, por todas as trocas de horário efetuadas e por substituir-me em vários momentos durante estes anos de estudo, sempre com muita compreensão e prontidão. A todos vocês, muito obrigada!!!

A comunidade terapêutica “Um Novo Caminho” (Fazendinha) por toda ajuda e espaço físico cedido em sua comunidade para os primeiros testes preliminares com o plantio do sorgo sacarino.

Aos alunos Leandro Gervásio Moura, Leandro Cardoso Fontoura, Celi Santana Silva, Amador Batista de Freitas Neto, Arthur Araújo Teixeira Miranda, Pierre Cleyston Vilarim Alvarenga do curso de agronomia da FEIT – UEMG de Ituiutaba e também a professora Dr^a Dalcimar Regina Batista Wangen, do curso de agronomia da FEIT – UEMG de Ituiutaba pela ajuda no plantio do sorgo sacarino na segunda etapa de execução deste trabalho.

Agradeço as amigas Janaína Fischer e Carla Zanella Guidini e Betânia Braz Romão, por todo o apoio e ajuda prestada durante estes meses de trabalho, por todas as análises que me ajudaram a realizar, demonstrando sempre simpatia, disponibilidade no esclarecimento de dúvidas e contribuindo intensamente para torná-lo cada vez mais rico.

Aos meus queridos professores e amigos de trabalho: Isaura Maria Ferreira, Heberly Fernandes Braga, Flavio Caldeira Silva, Marcelino Franco Moura, Juraci Lourenço Teixeira e Valdeci Orioli Junior, a todos vocês obrigada pela ajuda técnica, pelos conselhos, pelas caronas e principalmente pela força ao longo destes anos e em especial a professora e amiga

Gyzely Suely Lima por todo seu carinho, amizade e força dedicada a mim na fase final deste trabalho.

Agradeço a todos meus alunos que tiveram paciência de aguentar o meu cansaço durante as aulas realizadas no período de realização deste projeto, entendendo que era para um crescimento que possibilitará uma melhora em nosso grupo e principalmente por me fazerem acreditar todos os dias que vale a pena....

Aos profissionais que gentilmente aceitaram o convite para comporem a banca examinadora e contribuírem com o enriquecimento desse estudo.

Aos funcionários da FEQUI: Cecília, Silvino, Gabriel, Édio, Paulo, Roberta e Cleuzilene pela disposição e prontidão em ajudar-me sempre que precisei. A aluna de iniciação científica Thais Guerra Braga e Ana Maria Salomão pela ajuda prestada.

A todos os queridos amigos de laboratório que fiz ao longo do período de realização deste trabalho, pela amizade e companheirismo construído neste tempo, sempre disponíveis a contribuir e ajudar.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia, pela oportunidade concedida.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE SÍMBOLOS.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....	01
CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	05
2.1 A Produção de Etanol.....	05
2.2 Matérias-primas para produção de etanol.....	13
2.2.1 Matérias-primas Sacáginas.....	14
2.2.2 Matérias-primas amiláceas.....	16
2.2.3 Matérias-primas celulósicas.....	19
2.3 Sorgo.....	20
2.3.1 Características da cultura do sorgo.....	22
2.3.2 Cultivares de sorgo.....	25
2.3.3 Sorgo sacarino.....	28
2.3.4 Composição química do caldo do sorgo sacarino.....	38
2.4 Fermentação alcoólica.....	40
2.5 - Enzimas.....	43
2.5.1 Hidrólise enzimática do amido.....	44
2.6 Tratamento estatístico.....	48
2.6.1 Anova.....	48
2.6.2 Teste de Scott - Knott.....	50
CAPÍTULO 3 - MATERIÁL E MÉTODOS.....	53
3.1 Sorgo Sacarino.....	53
3.2 Colheita do sorgo e determinação da produtividade.....	56
3.3 Extração do caldo.....	58
3.4 Caracterização química do caldo.....	59
3.5 Construção da curva de maturação e determinação dos nutrientes.....	61
3.6 Acompanhamento dos açúcares após acamamento do sorgo.....	61
3.7 Acompanhamento dos açúcares após congelamento.....	62

3.8 Caracterização de açúcares em diferentes partes do colmo do sorgo sacarino.....	62
3.9 Ensaios de fermentação.....	63
3.9.1 Biorreator.....	63
3.9.2 Fermentação do caldo <i>in natura</i> com e sem adição de nutrientes.....	64
3.9.3 Fermentação do caldo <i>in natura</i> com e sem agitação.....	65
3.9.4 Fermentação do caldo concentrado.....	65
3.9.5 Fermentação do caldo concentrado para determinação de ácidos.....	66
3.10 Cálculo do rendimento das fermentações.....	67
3.11 Contagem de células viáveis.....	67
3.12 Determinação da atividade enzimática da enzima α -Amilase e Amiloglicosidase no caldo do sorgo sacarino.....	68
3.13 Quantificação de açúcares redutores apóshidrólise enzimática.....	70
3.14 Avaliação do efeito da adição de enzimas no caldo de sorgo.....	70
3.15 Avaliação da fermentação do caldo de sorgo sacarino hidrolisado.....	72
CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
4.1 Plantio e crescimento das cultivares de sorgo sacarino.....	73
4.2 Determinação da produtividade.....	78
4.3 Curva de maturação.....	86
4.4 Determinação dos nutriente e amido no caldo de sorgo sacarino ao longo do período de maturação.....	95
4.5 Acompanhamento dos açúcares após congelamento.....	101
4.6 Caracterização de açúcares em diferentes partes do colmo do sorgo sacarino.....	102
4.7 Fermentação do caldo <i>in natura</i> com e sem adição de nutrientes.....	104
4.8 Fermentação do caldo de sorgo <i>in natura</i> com e sem agitação.....	106
4.9 Fermentações alcoólicas das 4 cultivares de sorgo sacarino.....	107
4.10 Fermentação do caldo concentrado.....	112
4.11 Quantificação dos ácidos no caldo concentrado.....	116
4.12 Determinação da atividade enzimática das enzimas α -amilase e amiloglicosidase no caldo do sorgo Sacarino.....	123

4.13 Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509.....	126
4.14 Fermentação alcoólica do caldo de sorgo BRS 509 com adição de enzimas.....	131
CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....	135
5.1 Conclusões.....	135
5.2 Sugestões para trabalhos futuros.....	137
CAPÍTULO 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	138
CAPÍTULO 7 - ANEXOS.....	161
CAPÍTULO 8 - APÊNDICES.....	171

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 -	Fontes de energias renováveis.....	6
Figura 2.2 -	Produção mundial de etanol (em milhões de litros).....	7
Figura 2.3 -	Projeções da produção de etanol - EPE 2007, MAPA 2007 e UNICA 2007.....	12
Figura 2.4 -	Rotas tecnológicas para produção de biocombustíveis.....	13
Figura 2.5 -	Fluxograma geral do processo de obtenção de bioetanol de milho (via úmida).....	17
Figura 2.6 -	Fluxograma geral do processo de obtenção de bioetanol de milho (via seca).....	18
Figura 2.7 -	Planta de sorgo.....	21
Figura 2.8 -	Estrutura de uma planta do tipo C ₄	23
Figura 2.9 -	Sorgo Granífero.....	25
Figura 2.10 -	Sorgo vassoura.....	26
Figura 2.11 -	Diferentes cores de grãos de sorgo.....	27
Figura 2.12 -	Colmos do sorgo sacarino.....	28
Figura 2.13 -	Sorgo Sacarino (O autor).....	29
Figura 2.14 -	Etapas da produção de etanol e subprodutos gerados utilizando sorgo sacarino.....	35
Figura 2.15 -	Balanço de massa da produção de etanol utilizando sorgo sacarino.	36
Figura 2.16 -	Via glicolítica, síntese de glicerol e conversão do piruvato a etanol.	40
Figura 2.17 -	Estrutura da amilose.....	44
Figura 2.18 -	Estrutura da amilopectina.....	45
Figura 2.19 -	Algoritmo para classificação pelo método de Scott-Knott.....	52
Figura 3.1 -	Fluxograma das etapas de realização do trabalho.....	53
Figura 3.2 -	Área experimental das parcelas utilizada para o plantio das cultivares de sorgo sacarino.....	54

Figura 3.3 -	Delimitação das parcelas para determinação de produtividade e plantio.....	55
Figura 3.4 -	Espaçamento e comprimento entre as fileiras de sorgo.....	56
Figura 3.5 -	Colmos de sorgo sacarino sem folha e sem panícula para extração do caldo e pesagem.....	57
Figura 3.6	- Colheita dos colmos centrais de cada parcela para determinação dos parâmetros de produtividade.....	57
Figura 3.7 -	Moenda utilizada na extração do caldo.....	58
Figura 3.8 -	Bagaço e caldo do sorgo sacarino.....	59
Figura 3.12 -	HPLC Shimadzu modelo LC-20A Prominence utilizado nas análises de açúcar e etanol.....	60
Figura 3.9 -	Colmos de sorgo sacarino sem folhas para extração do caldo.....	62
Figura 3.10 -	Cultivar BRS 506 após acamamento.....	62
Figura 3.11 -	Divisão do colmo de sorgo sacarino embase, meio e ápice para caracterização dos açúcares.....	63
Figura 3.12 -	Fermentador batelada modelo <i>B. Braun Biotech International</i> utilizado em ensaios de fermentação e hidrólise de melaço de soja..	64
Figura 3.13 -	Esquema da câmara de Neubauer.....	68
Figura 4.1 -	Sorgo sacarino com 6 dias após o plantio.....	73
Figura 4.2 -	Sorgo sacarino com 12 dias após o plantio.....	74
Figura 4.3 -	Sorgo sacarino com 19 dias após o plantio.....	75
Figura 4.4 -	Sorgo sacarino com 35 dias após o plantio.....	75
Figura 4.5 -	Sorgo sacarino com 55 dias após o plantio - Iniciação da diferenciação floral.....	76
Figura 4.6 -	Sorgo sacarino com 77 dias após o plantio - Início da fase reprodutiva e acúmulo de açúcares.....	76
Figura 4.7 -	Cultivares de sorgo sacarino BRS 508 e BRS 511 com 82 dias após o plantio (fase de enchimento dos grãos).....	77
Figura 4.8 -	Sorgo sacarino com 120 dias após o plantio.....	77

Figura 4.9 -	Dados diários de precipitação e temperatura média do ar durante os períodos experimentais na região de Ituiutaba –MG.....	83
Figura 4.10 -	Perfis do acúmulo de açúcares no período de maturação para o ensaio realizado na safra 2012.....	87
Figura 4.11-	Perfis do acúmulo de açúcares no período de maturação para o ensaio realizado na safra 2013.....	88
Figura 4.12 -	Perfis do acúmulo de sacarose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na safra 2012.....	91
Figura 4.13 -	Perfis do acúmulo de glicose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na safra 2012.....	92
Figura 4.14 -	Perfis do acúmulo de frutose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na safra 2012.....	93
Figura 4.15 -	Perfis do acúmulo de sacarose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na safra agrícola 2013.....	94
Figura 4.16 -	Perfis do acúmulo de glicose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506 (■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na a safra agrícola 2013.....	94
Figura 4.17 -	Perfis do acúmulo de frutose ao longo do período de maturação para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (●), BRS 509 (★) e BRS511 (▲) na safra agrícola 2013.....	95
Figura 4.18 -	Concentração de fósforo no período de maturação do sorgo sacarino para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (★), BRS 509 (●) e BRS511 (▲)na safra agrícola 2013.....	96
Figura 4.19 -	Concentração de cálcio no período de maturação do sorgo sacarino para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (★), BRS 509 (●) e BRS511 (▲)na safra agrícola 2013.....	97
Figura 4.20 -	Concentração de magnésio no período de maturação do sorgo sacarino para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (★), BRS 509	

(●) e BRS511	(▲) na safra agrícola	98
2013.....		
Figura 4.21 - Concentração de nitrogênio no período de maturação do sorgo sacarino para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (★), BRS 509 (●) e BRS511 (▲)na safra agrícola 2013.....	99	
Figura 4.22 - Concentração de amido no período de maturação do sorgo sacarino para as cultivares BRS 506(■), BRS 508 (★), BRS 509 (●) e BRS511 (▲)na safra agrícola 2013.....	100	
Figura 4.23 - Acompanhamento do açúcar total (sacarose, glicose e frutose) presente no caldo do sorgo sacarino da cultivar BRS 508 (■), BRS 509 (●), BRS 509 com podridão vermelha (▲) e cana-de-açúcar (★) em função do tempo de congelamento.....	102	
Figura 4.23 – Perfis de concentração de açúcar total na fermentação do caldo do sorgo sacarino da cultivar BRS 506 com adição de nutriente (○) e sem nutriente (●) e concentração de etanol formado com adição de nutrientes (□) e sem nutriente (■) em função do tempo de fermentação.....	104	
Figura 4.24 – Perfis de concentração de açúcar total para fermentação do caldo do sorgo sacarino da cultivar BR 511 com adição de nutriente (○) e sem nutriente (●) e concentração de etanol formado com adição de nutrientes (□) e sem nutriente (■) em função do tempo de fermentação.....	105	
Figura 4.25 - Perfil do consumo de açúcar total com agitação de 400 rpm (□), 100 rpm (●) e sem agitação (▲) e da concentração de etanol produzido com agitação de 400 rpm (★), 100 rpm (○) e sem agitação (■) no caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 em função do tempo de fermentação.....	107	
Figura 4.26 - Perfil da concentração de etanol (■), consumo de açúcares total (●) e crescimento celular (▲) no caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 em função do tempo de fermentação.....	109	
Figura 4.27 - Perfil da concentração de etanol (■), consumo de açúcares total (●)	109	

e crescimento celular (\blacktriangle) no caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 509 em função do tempo de fermentação.....	
Figura 4.28 -	
Figura Perfil da concentração de etanol (\blacksquare), consumo de açúcares total (\bullet) e crescimento celular (\blacktriangle) no caldo de sorgo sacarino da cultivar BR 511 em função do tempo de fermentação.....	110
Figura 4.29 -	
Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 508 (\square) e do caldo de cana-de-açúcar (\blacksquare), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 508 (\circ) e do caldo de cana-de-açúcar (\bullet), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 508 (\star) e no caldo de cana-de-açúcar (\star) em função do tempo de fermentação.....	111
Figura 4.30 -	
Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (\square) e do caldo de cana-de-açúcar (\blacksquare), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (\circ) e do caldo de cana-de-açúcar (\bullet), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 509 (\star) e no caldo de cana-de-açúcar (\star) em função do tempo de fermentação com concentrações iniciais de açúcar total de 160 g/L.....	113
Figura 4.31 -	
Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (\square) e do caldo de cana-de-açúcar (\blacksquare), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (\circ) e do caldo de cana-de-açúcar (\bullet), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 509 (\star) e no caldo de cana-de-açúcar (\star) em função do tempo de fermentação com concentrações iniciais de açúcar total de 180 g/L.....	114
Figura 4.32 -	
Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (\square) e do caldo de cana-de-açúcar (\blacksquare), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (\circ) e do caldo de cana-de-açúcar (\bullet), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 509 (\star) e no caldo de cana-de-açúcar (\star) em função do tempo de fermentação com concentrações iniciais de açúcar total de 220 g/L.....	115

Figura 4.33 - Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (□) e do caldo de cana-de-açúcar (■), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (○) e do caldo de cana-de-açúcar (●), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 509 (☆) e no caldo de cana-de-açúcar (★) em função do tempo de fermentação com concentrações iniciais de açúcar total de 260 g/L.....	115
Figura 4.34 - Evolução da concentração de etanol do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (□) e do caldo de cana-de-açúcar (■), consumo de açúcar total do caldo de sorgo sacarino BRS 509 (○) e do caldo de cana-de-açúcar (●), crescimento celular no caldo de sorgo sacarino BRS 509 (☆) e no caldo de cana-de-açúcar (★) em função do tempo de fermentação com concentrações iniciais de açúcar total de 300 g/L.	116
Figura 4.35 - Influência da concentração de enzimas α -amilase na atividade enzimática em temperatura de 35°C (□) e 75°C (■) para o tempo de 30 minutos.....	123
Figura 4.36 - Influência da concentração de enzimas amiloglicosidase na atividade enzimática em temperatura de 35°C (□) e 75°C (■) para o tempo de 30 minutos.....	124
Figura 4.37 - Influência do pH na atividade enzimática de enzimas α -amilase na temperatura de 35°C (□) e 75°C (■) para o tempo de 30 minutos	125
Figura 4.38 - Influência do pH na atividade enzimática de enzimas amiloglicosidas na temperatura de 35°C (□) e 75°C (■) para o tempo de 30 minutos.....	125

LISTA DE TABELA

Tabela 2.1 -	Histórica do uso de etanol em mistura com gasolina.....	9
Tabela 2.2 -	Composição percentual média de matérias-primas sacarinas.....	15
Tabela 2.3 -	Rendimento em biomassa e etanol de diferentes culturas	30
Tabela 2.4 -	Comparação entre cana-de-açúcar, beterraba e do sorgo sacarino.....	31
Tabela 2.5 -	Análise do caldo, colmo e bagaço do sorgo sacarino e da cana-de-açúcar.....	32
Tabela 2.6 -	Vantagens comparativas entre as culturas de sorgo sacarino e cana-de-açúcar para a produção de etanol.....	33
Tabela 2.7 -	Sistemas de fermentação e produtos gerados utilizando açúcares derivados de sorgo sacarino.....	34
Tabela 2.8 -	Composição média do caldo de sorgo sacarino da variedade KKU 40 cultivada na Tailândia.....	38
Tabela 2.9 -	Característica das enzimas envolvidas na hidrólise do amido.....	47
Tabela 2.10-	Quadro de análise de variância.....	48
Tabela 3.1 -	Concentração de nutrientes adotadas no preparo do meio de cultura para fermentação.....	65
Tabela 3.2 -	Condições dos experimentos para determinação da atividade enzimática para as enzimas α -amilase e amiloglicosidase (AMG).....	69
Tabela 3.3 -	Diferentes condições de hidrólise enzimática no caldo do sorgo sacarino com a enzima α -amilase e amiloglicosidase na concentração de 1 g/L.....	71
Tabela 4.1 -	Composição de açúcares e fibra das cultivares de sorgo sacarino e rendimento de fermentação.....	78
Tabela 4.2 -	Resumo da análise de variância conjunta para altura de plantas, produtividade de colmos, °Brix, e produção de açúcar total avaliadas na safra agrícola 2012 e 2013.....	78

Tabela 4.3 -	Resumos das análises de variância conjunta para produção de etanol por tonelada de colmo (PE), litros de etanol por hectare (LE) e teor de fibra por tonelada de colmo (TF) avaliadas na safra agrícola 2012 e 2013.....	79
Tabela 4.4 -	Resultados médios para produtividade de colmos por hectare (TCH) a partir da avaliação de 4 cultivares de sorgo sacarino, avaliadas na safra agrícola 2012 e 2013.....	80
Tabela 4.5 -	Desdobramento da interação “safra vs. cultivares” para as variáveis altura de plantas, produtividade de colmos por hectare (TCH), °Brix, e produção de açúcares totais(AT) em g/L e em kg/tonelada a partir da avaliação de 4 cultivares de sorgo sacarino, avaliadas na safra agrícola 2012 e 2013.....	81
Tabela 4.6 -	Desdobramento da interação “safra vs. cultivares” de açúcar total (AT), produção de etanol (PE) por tonelada de colmo e por hectare e teor de fibra (TF) a partir da avaliação de 4 cultivares de sorgo sacarino, avaliadas na safra agrícola 2012 e 2013.....	83
Tabela 4.7 -	População média de plantas por hectare obtida para cada cultivar.....	85
Tabela 4.8 -	Composição de açúcares nas 3 partes do colmo de sorgo sacarino da cultivar BRS 511.....	103
Tabela 4.9 -	Composição de açúcares nas 3 partes do colmo de sorgo sacarino da cultivar BRS 508.....	103
Tabela 4.10 -	Composição de açúcares nas 3 partes do colmo de sorgo sacarino da cultivar BRS 509.....	103
Tabela 4.11 -	Composição de açúcares nas 3 partes do colmo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506.....	103
Tabela 4.12 -	Resultados de rendimento e produtividade obtidos na fermentação do caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 com e sem adição de nutrientes.....	105
Tabela 4.13 -	Resultados de rendimento e produtividade obtidos na fermentação do caldo de sorgo sacarino da cultivar BR 511 com e sem adição de nutrientes.....	106
Tabela 4.14 -	Rendimento e produtividade obtidos na fermentação do caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 em diferentes condições de	107

agitação.....	
Tabela 4.15 - Condições e resultados da fermentação alcoólica em relação a média da concentração inicial e final de AT, a média concentração inicial e final de células vivas/mL, a média concentração de etanol final, rendimento e produtividade.....	108
Tabela 4.16 - Concentrações de açúcar total inicial e final, rendimento e produtividade para fermentações realizadas com os caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 509 e caldo de cana em diferentes concentrações de açúcares iniciais em diferentes tempos de fermentação.....	112
Tabela 4.17 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de cana-de-açúcar na concentração de $149 \pm 2,7$ g/L de açúcar total inicial ao longo do tempo de fermentação.....	117
Tabela 4.18 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de cana-de-açúcar concentrado com $258 \pm 2,1$ g/L de açúcar total inicial ao longo do tempo de fermentação.....	117
Tabela 4.19 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de cana-de-açúcar na concentração de $149 \pm 2,7$ g/L de açúcar total inicial com adição de Kamoran ao longo do tempo de fermentação.....	118
Tabela 4.20 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de cana-de-açúcar concentrado com $258 \pm 2,1$ g/L de açúcar total inicial com adição de Kamoran ao longo do tempo de fermentação.....	118
Tabela 4.21 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de sorgo sacarino BRS 509 na concentração de $150 \pm 2,3$ g/L de açúcar total inicial ao longo do tempo de fermentação.....	118
Tabela 4.22 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de sorgo sacarino BRS 509 concentrado com $257 \pm 2,5$ g/L de açúcar total inicial ao longo do tempo de fermentação.....	119
Tabela 4.23 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação	

alcoólica do caldo de sorgo sacarino BRS 509 na concentração de 150 ± 2,3 g/L de açúcar total inicial com adição de Kamoran ao longo do tempo de fermentação.....	119
Tabela 4.24 - Concentrações de ácidos determinados durante a fermentação alcoólica do caldo de sorgo sacarino BRS 509 concentrado com 257 ± 2,5 g/L de açúcar total inicial com adição de Kamoran ao longo do tempo de fermentação.....	120
Tabela 4.25 - Rendimento e produtividade obtidos nas fermentações do caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 509 e do caldo de cana-de-açúcar nas concentrações de 149 ± 2,7 g/L e 258 ± 2,1 g/L para avaliação dos ácidos para 8 horas de fermentação.....	120
Tabela 4.26 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com a enzima α -amilase na concentração de 1g/L, temperatura de 75°C e pH de 6,5.....	126
Tabela 4.27 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com a enzima amiloglicosidase na concentração de 1g/L, temperatura de 75°C e pH de 4,8.....	127
Tabela 4.28 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com as enzimas α -amilase e amiloglicosidase na concentração de 1g/L, temperatura de 75°C e meia hora em pH 4,8 e meia hora em pH 6,5.....	128
Tabela 4.29 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com a enzima α -amilase na concentração de 1g/L, temperatura de 35°C e pH de 4,8.....	128
Tabela 4.30 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com a enzima α -amilase na concentração de 1g/L, temperatura de 75°C e pH de 4,8.....	129
Tabela 4.31 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com a enzima amiloglicosidase na concentração de 1g/L, temperatura de 35°C e pH de 4,8.....	129
Tabela 4.32 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com as enzimas α -amilase e amiloglicosidase na concentração de 1g/L, temperatura de 35°C e pH de 4,8.....	130

Tabela 4.33 - Hidrólise enzimática do caldo do sorgo sacarino BRS 509 com as enzimas α -amilase e amiloglicosidase na concentração de 1g/L, temperatura de 75°C e pH de 4,8.....	130
Tabela 4.34 - Valores médios obtidos para a concentração de etanol, glicerol e consumo de açúcar total no caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 em função do tempo de fermentação sem adição de enzimas na temperatura de 35°C.....	131
Tabela 4.35 - Valores médios obtidos para a concentração de etanol, glicerol e consumo de açúcar total no caldo de sorgo sacarino da cultivar BRS 506 em função do tempo de fermentação com adição de enzimas α -amilase e amiloglicosidase na temperatura de 35°C.....	132
Tabela 4.36 - Resultados de rendimento e produtividade obtidos na fermentação do caldo de sorgo sacarino da cultivar BR 509 com e sem adição de enzimas.....	132

LISTA DE SÍMBOLOS

$Y_{P/AT}$	Rendimento de etanol formado em relação ao consumo de açúcar total	%
EC_F	Concentração de etanol ao final da fermentação	g/L
TS_F	Concentração de açúcar final	g/L
TS_I	Concentração de açúcar inicial	g/L
P_E	Produtividade de etanol	g/L
t	Tempo de fermentação	h
TCH	Tonelada de colmo por hectare	ton/ha
AT	Açúcar total	g/L
PE	Produção de etanol por tonelada de colmo	L/ton
TF	Tonelada de Fibra por hectare	ton/ha
AT_I	Concentração de açúcar total inicial	g/L
AT_R	Concentração de açúcar total residual	g/L
CV_I	Concentração inicial de células vivas	mL
CV_F	Concentração final de células vivas	mL
CE_F	Concentração de etanol final	g/L
P_{etanol}	Produtividade de etanol	g/L.h
PUI	Período útil industrial	
FV	fonte de variação	
GL	graus de liberdade	
QM	quadrado médio	
p	significância	
CV	coeficiente de variação	

RESUMO

Dentre as diversas matérias-primas renováveis disponíveis para produção de etanol, especial destaque vem sendo dado ao sorgo sacarino, pois o caldo extraído de seus colmos é composto por sacarose, glicose, frutose e podem, portanto, ser facilmente fermentados para produção de etanol. Neste trabalho avaliou-se o comportamento das concentrações de açúcares (sacarose, glicose e frutose), nutrientes (N, Ca, Mg, P) e amido no caldo do sorgo sacarino de 4 cultivares desenvolvidas pela Embrapa Milho e Sorgo (BRS 506, BRS 507, BRS 509, BRS 511) durante o seu período de maturação. Foi determinado também o período de utilização industrial, a produtividade dos colmos e a produção de etanol utilizando o caldo de sorgo sacarino em diferentes épocas de plantio. As cultivares apresentaram diferentes concentrações de açúcares, período útil industrial e produtividades entre si e entre as épocas de plantios, evidenciando influência das condições climáticas e das características de cada cultivar. Todas as cultivares apresentaram comportamentos similares com relação aos teores de nutrientes que foram caracterizados pela diminuição da concentração de nutrientes ao longo do período analisado e aumento na concentração de amido. Após 8 horas de fermentação alcoólica do caldo das cultivares, verificou-se que a cultivar BR 508 apresentou o melhor desempenho em termos de produtividade (9,0g/L.h) e rendimento ($Y_{P/ART} = 90,5\%$). Também verificou-se a viabilidade do congelamento do caldo do sorgo sacarino e foi observado que após 30 dias, os teores de açúcar total sofreram redução em suas concentrações. Foram feitas caracterizações dos teores de açúcares em diferentes partes dos colmos para as quatro cultivares e constatou-se que maiores concentrações de açúcar total encontram-se na base dos colmos. Foram realizadas fermentações alcoólicas a fim de avaliar o efeito da adição de nutrientes e de agitação durante a fermentação e verificou-se que estes dois parâmetros não acrescentavam ganhos durante a fermentação. Fermentaram-se caldos de sorgo sacarino com diferentes concentrações de açúcares, de forma comparativa com o caldo de açúcar, afim de avaliar o efeito de diferentes concentrações de açúcar total (160, 180, 220, 260 e 300 g/L) no rendimento da fermentação. Foi verificado que com o aumento da concentração de açúcar não houve aumento na produção de etanol para as concentrações de 160, 180, 220 e 260 g/L e houve redução para a concentração de 300 g/L, mostrando inibição na produção de etanol quando utilizou-se caldo com maior concentração inicial de açúcar e verificou-se que o rendimento e a produtividade em 8 h de fermentação para o caldo de sorgo foi de 0,8 a 4,8 % e de 2 a 3,7 % superior as fermentações do caldo de cana nas mesmas condições. Foram feitas avaliações da utilização da enzima α -amilase e amiloglicosidase na hidrólise enzimática do amido presente no caldo do sorgo sacarino. Verificou-se que a ação conjunta da adição das duas enzimas no caldo proporcionou uma maior hidrólise do amido presente no caldo do sorgo sacarino, com aumento de 1,67 litros de etanol para cada tonelada de sorgo processada.

Palavras-chave: Sorgo sacarino, etanol, curva de maturação, cultivar BRS 506, cultivar BRS 508, cultivar BRS 509, cultivar BR 511, fermentação alcoólica.

ABSTRACT

Among the various renewable feedstocks available for ethanol fuel production, special emphasis has been given to sweet sorghum because the extracted juice of its stalk is composed of sucrose, glucose, fructose and can therefore be easily fermented to produce ethanol. In this paper we evaluate the behavior of the concentrations of sugars (sucrose, glucose, and fructose), nutrients (N, Ca, Mg, P) and starch in the juice from four sweet sorghum cultivars developed by Embrapa Maize and Sorghum (BRS 506, BRS 507, BRS 509, BRS 511) during time of maturation. The industrial use period was also determining the yield of cane and ethanol production using sweet sorghum juice in different planting dates. The cultivars showed different concentrations of sugars, industrial use period, and productivity between them as well as between the ages of plantings, showing influence of climatic conditions and the characteristics of each cultivar. All cultivars showed similar behavior with regard to nutrient content which were characterized by decreased concentration of nutrients throughout the analysis and increase in starch period. After fermenting both cultivars for 8 hours, it was found that cultivar BR 508 showed the best performance in terms of productivity (9.0 g/Lh) and yield (YP/ART = 90.5 %). Also, the feasibility of freezing the juice of sweet sorghum was verified and it was observed that after 30 days the levels of total sugars were reduced in their concentrations. Characterizations of sugar content were made in different parts of the stalk for the four cultivars and found that higher concentrations of total sugars are at the base of the stalk. Fermentations of the sorghum cultivars was carried out in order to evaluate the effectiveness of nutrient addition and stirring during fermentation process, which found that these two parameters did not add gains during fermentation. The fermented broths with different concentrations of sorghum sugar , in comparison with the juice of sugar, in order to evaluate the effect of different concentrations of total sugar (160, 180, 220, 260, and 300 g/L) yield the fermentation. It was found that with increasing sugar concentration, it did not increase the production of ethanol to concentrations of 160, 180, 220, and 260 g/L and the concentration was reduced to 300 g/L, showing inhibition on ethanol production when using sorghum broth with increased initial concentration of sugar and it has been found that yield and productivity in 8 hours of fermentation broth for the sorghum was from 0.8 to 4.8% and from 2 to 3.7% higher fermentations sugarcane juice under the same conditions. Reviews the use of enzyme α -amylase and amyloglucosidase the enzymatic hydrolysis of the juice in the juice of this sweet sorghum starch were made. It was noticed that the joint action of the addition of the two enzymes in the broth provided greater hydrolysis of starch present in the juice of sweet sorghum, an increase of 1.67 gallons of ethanol per ton of processed sweet sorghum .

Keywords: sweet sorghum, ethanol, maturation curve, cultivars BRS 506, cultivars BRS 508, cultivars BRS 509, cultivar BR 511, alcoholic fermentation.

CAPÍTULO 1

INTRODUCÃO

Nos últimos anos, com a aceleração da demanda por combustíveis fósseis, principalmente com relação aos surtos de crescimento da Índia e da China, incertezas a respeito da disponibilidade futura de recursos não renováveis e tensões geopolíticas em regiões produtoras de petróleo, têm despertado grande interesse no mundo pelos biocombustíveis, pois estes são os mais viáveis substitutos para o petróleo, em escala significativa.

As alterações climáticas constituem um dos maiores desafios com que a humanidade terá de se defrontar nos próximos anos, e juntamente com esta preocupação surge a necessidade de se alterar drasticamente a matriz energética mundial, reduzindo o consumo das energias fósseis, buscando a cada dia alternativas para se obter um combustível renovável, acessível, disponível, seguro e eficaz. Estes são desafios que a humanidade deve enfrentar. Entre 2013 e 2022, a oferta dos principais produtores globais de biocombustível (EUA, Brasil, União Europeia, Argentina, Canadá, China e Indonésia) deverá subir em cerca de 30% no caso do biodiesel e em 40% para o etanol. No Brasil, a projeção é de que a produção de etanol cresça 90%, especialmente para suprir à crescente demanda interna por combustíveis com maior mistura de etanol a gasolina. Enquanto isso, a União Europeia continuará como a maior consumidora e importadora de biocombustíveis.

De acordo com a política dos EUA para os combustíveis renováveis, estabelecida a partir de 2009, uma parcela crescente de biocombustíveis passaria a fazer parte do consumo de combustíveis do país por reduzirem as emissões de gases do efeito estufa em pelo menos 50% em relação à gasolina. Com a tecnologia existente, apenas o etanol de cana-de-açúcar satisfaz esses requisitos e possui oferta suficiente para atender o mercado, posicionando o Brasil como o principal fornecedor para suprir grande parte dessa lacuna (NOVACANA,2014).

Entretanto, com os problemas de produção enfrentados pelo Brasil, em 2011/2012, as exportações mantiveram-se em 1,9 bilhão de litros, ao mesmo tempo em que houve a necessidade de importar 1,5 bilhão de litros de etanol dos EUA, para suprir a demanda doméstica do combustível. Em 2012/2013, as exportações brasileiras de etanol voltaram a crescer, somando 3,5 bilhões de litros, embora o Brasil siga importando o produto em menores quantidades (NOVACANA,2014).

Referência internacional na geração e na utilização de fontes renováveis de energia, o Brasil reencontra-se em uma grande oportunidade de desenvolvimento econômico e social, por meio dos biocombustíveis, pois possui abundante biodiversidade e grandes extensões de terras agricultáveis e com clima propício (CERQUEIRA, 2013). O Brasil é atualmente o país líder na utilização de energia renovável em sua matriz energética (44,7%), sendo 15,7% proveniente da biomassa da cana, contra 13,3% da média mundial, produzindo na safra de 2013/14, 25,04 bilhões de litros de álcool combustível, sendo o estado de São Paulo o principal produtor de etanol produzido no país, seguidos pelo estado de Goiás (UNICA, 2014).

O Brasil reúne vantagens comparativas em relação a outros países, podendo se tornar um relevante produtor de biocombustíveis. No entanto, ainda apresenta problemas para suprimento de sua demanda interna, cuja proposta para solução desse impasse, entre outras, é a pesquisa e o desenvolvimento de novas matérias primas, para diversificação e ampliação da matriz energética renovável. O etanol da cana-de-açúcar representa um caso de sucesso tecnológico para o país, sendo a cana-de-açúcar considerada nacionalmente como a principal cultura para produção deste biocombustível. A indústria da cana mantém o maior sistema de energia comercial de biomassa no mundo, por meio da produção de etanol e do uso do bagaço e da palha para geração de eletricidade (SCHULZ, 2010; WU et al., 2011).

Em alguns casos os custos de produção de etanol combustível são maiores do que os custos de produção de gasolina, embora haja uma forte influência de fatores como os preços do petróleo e matérias-primas para a produção de etanol. No entanto, muitos grupos e centros de pesquisa de diferentes países estão continuamente em busca da redução do custo de produção do etanol para que este processo seja rentável para a indústria e viável para o consumidor e também pela diversificação da matéria-prima (WU et al., 2011).

E entre as diversas matérias-primas renováveis que estão sendo avaliadas atualmente para produção de etanol, especial destaque vem sendo dado ao sorgo sacarino, pois o caldo extraído de seus colmos é composto por sacarose, glicose, frutose e pode, portanto, ser facilmente fermentado para produção de etanol. Outra vantagem é o fato de que o processo agroindustrial de produção de etanol do sorgo sacarino pode estar associado ao setor sucroalcooleiro e em regiões em que a cana tem boa adaptação, seria uma cultura complementar na entressafra, estendendo o período de colheita por mais dois meses, evitando a ociosidade das destilarias, pois utiliza os mesmos equipamentos, da moagem à destilação. Essa flexibilidade é resultado, em parte, do sorgo ser uma planta de características naturais fortes e de rápido crescimento, atingindo maturidade entre 90 e 140 dias. Além disso, pode ser

também um processo empregado em micro e mini destilarias produtoras de etanol ou aguardente baseadas, por exemplo, no cooperativismo ou associativismo de agricultores (SIPOS et al., 2009).

Outras características importantes do sorgo sacarino são seus coprodutos gerados. A produção de grãos e o próprio bagaço apresentam qualidades interessantes para alimentação animal, podendo viabilizar projetos de produção diversificada. Vale salientar que seus grãos também podem ser utilizados para a produção de etanol, utilizando hidrólise enzimática, e a biomassa excedente gerada pode ser empregada tanto na cogeração de energia, como na denominada segunda geração de biocombustíveis.

Um dos pilares para o sucesso do sistema de produção de etanol de sorgo sacarino consiste no desenvolvimento de matéria-prima de qualidade. A produção de genótipos que atendam às características tecnológicas demandadas pelo mercado é o papel de um programa de melhoramento genético, no caso, cultivares com boa produtividade e qualidade do caldo para a produção de etanol. Além de produtivas, as cultivares também precisam ser estáveis quanto às variações ambientais e apresentar boas respostas com relação às melhorias no ambiente.

Diante do exposto, este trabalho tem como o objetivo geral avaliar as cultivares de sorgo sacarino desenvolvidas pela Embrapa Milho e Sorgo denominadas de BRS 506, BRS 508, BRS 509 e BRS511 para produção de etanol e como objetivos específicos têm-se:

- Caracterizar quimicamente o caldo do sorgo sacarino;
- Construir a curva de maturação dos açúcares para cada cultivar de sorgo sacarino;
- Avaliar o comportamento dos açúcares e nutrientes no período de maturação das cultivares BRS 506, BRS 508, BRS 509 E BRS 511;
- Avaliar a produtividade de colmo destas cultivares;
- Analisar o comportamento dos açúcares do caldo do sorgo sacarino após acamamento.
- Acompanhar ao longo do tempo o comportamento de açúcar total presentes no caldo do sorgo sacarino após o seu congelamento;
- Verificar a influência da época do plantio na formação dos açúcares e produtividade de massa verde;
- Realizar análise estatística dos dados de produtividade;
- Caracterizar o açúcar total em diferentes partes do colmo do sorgo sacarino;

- Analisar os processos fermentativos em termos de rendimento de etanol e produtividade, empregando uma linhagem industrial de *Saccharomyces cerevisiae* (JP1) para as quatro cultivares de sorgo sacarino em diferentes condições de processo;
- Avaliar as fermentações do caldo de sorgo sacarino em diferentes concentrações iniciais de açúcares
- Avaliar o efeito da adição de enzimas para hidrólise do amido presente no caldo do sorgo sacarino avaliando o rendimento e a produtividade final de etanol.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo será apresentada e discutida a revisão bibliográfica sobre o tema de produção de etanol com matérias-primas alternativas à cana-de-açúcar, com ênfase na utilização do sorgo sacarino para a produção de etanol.

2.1 A Produção de Etanol

O mundo atual convive com um questionamento crescente de paradigmas estabelecidos na economia e também na cultura política. A crise ambiental no planeta, quando traduzida na mudança climática, é uma ameaça real ao pleno desenvolvimento das nossas potencialidades. Dentro de um contexto de desenvolvimento econômico, a sustentabilidade é um dos desafios da indústria e da agricultura mundial, pois os processos de produção devem ser, a cada dia, mais limpos. Consequentemente, os produtos devem ser biodegradáveis, oriundos de fontes renováveis e consumirem um baixo custo de energia, obedecendo aos princípios da química verde (BARCELOS, 2012).

Desta forma, o mundo se prepara para diminuir a dependência do petróleo motivado por aspectos econômicos, geopolíticos e ambientais, fazendo com que as atenções do mundo se voltem para fontes alternativas de energia, em especial para o etanol que desperta mundialmente de modo crescente a atenção de pesquisadores, empresas e governos.

Atualmente, sabe-se que as reservas de combustíveis fósseis, contrariando as primeiras previsões, poderão abastecer as necessidades de energia ainda por longo período. No entanto, as reservas de petróleo, comercialmente exploráveis, crescem a taxas menores que o consumo, indicando, por conseguinte, um descolamento entre essas duas curvas (reservas e consumo). Além disso, os custos cada vez mais elevados pelas constantes crises políticas e sociais dos países do Oriente Médio, detentores da maioria das reservas, o aumento da dificuldade de extração e o crescente uso destes recursos como matéria-prima para a produção de bens de consumo serão o principal fator para a sua completa substituição (OLIVEIRA, 2009).

A necessidade de redução de emissão de gases efeito estufa, evidenciado desde o Protocolo de Kyoto, em 1997, e as barreiras impostas de uma matriz energética baseada em combustível fóssil, não renovável, levaram à procura de outras fontes de energia. Estima-se

que entre 60 bilhões e 87 bilhões de toneladas de carbono poderão ser estocadas em florestas, entre 1990 e 2050, o que equivale a 12% a 15% das emissões por combustíveis fósseis, no mesmo período (ALTINTAS et al., 2002). Estudos demonstram que, a longo prazo, usar biomassa energética é mais vantajoso do que empregar a terra no cultivo de florestas para sequestro de carbono (PASQUAL, 2011).

Neste sentido, vários países têm dado prioridade a políticas que favoreçam a produção e utilização de bicompostíveis, sendo que o etanol é responsável por 90% da produção total de bicompostíveis, em diferentes partes do mundo. Sinônimo de combustível renovável, que polui menos em comparação com os derivados de petróleo, o etanol voltou a ocupar um lugar de destaque no cenário energético do país e também começou a ser desejado por vários países. (VRIES et al., 2010).

Os biocompostíveis constituem apenas um segmento das bioenergias que incluem ainda o carvão vegetal, o biogás, a lenha, a cogeração da energia elétrica e o calor a partir das biomassas como pode ser visualizado na Figura 2.1. Estas bioenergias constituem apenas um segmento do conjunto das produções derivadas da exploração ecologicamente sustentável do complexo da biodiversidade, que abrange florestas nativas e reservas naturais, florestas plantadas, áreas destinadas aos cultivos perenes, destinadas aos cultivos sazonais e as pastagens (SILVA, 2010).

O consumo mundial de energia apresentou um considerável aumento no início do século XXI e a projeção indica a manutenção de taxas elevadas de crescimento da demanda de energia, sendo que a demanda de energia no mundo sinaliza aumento de 1,7% ao ano, de 2000 a 2030, quando alcançará o consumo de 15,3 bilhões tep (toneladas equivalentes de petróleo) por ano, de acordo com o cenário traçado pelo Instituto Internacional de Economia (MUSSA, 2003). Vários estudos relatam que nos próximos 20 anos mais de 10% de toda a gasolina usada no mundo pode ser substituída por bicompostíveis e a demanda de energia está projetada para crescer mais de 50% até 2025, em grande parte decorrente do crescimento de países em rápido desenvolvimento, levando assim à necessidade de um aumento significativo da produção de etanol (ALPER e STEPHENOPoulos, 2009; GOLDEMBERG, 2008). Sendo assim, o contínuo suprimento de energia é condição vital para o crescimento e melhoria da condição de vida da população.

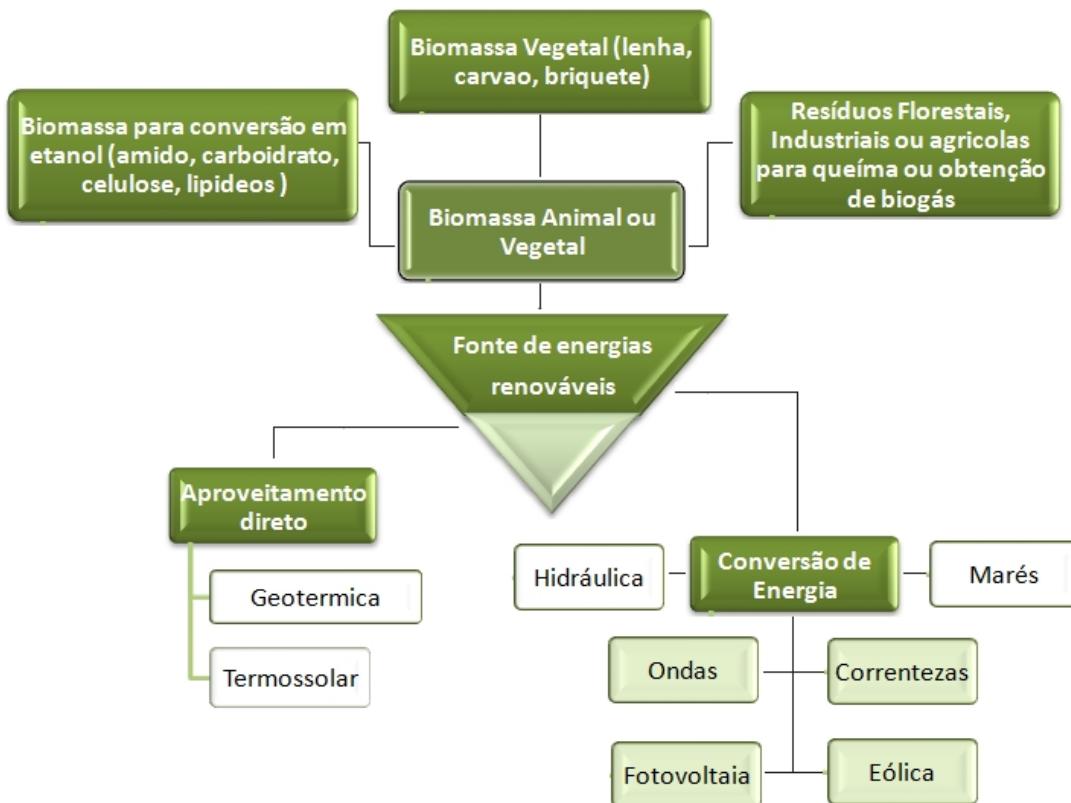


Figura 2.1 - Fontes de energias renováveis (EMBRAPA, 2009)

O Brasil ocupa certa posição de vantagem frente aos demais países com relação aos bicompostíveis. São quase quatro décadas de experiências acumuladas, desde o Proálcool que teve sua origem em 1975, que permitiram ao país desenvolver tecnologias em toda a sua cadeia produtiva da cana-de-açúcar. Também é indiscutível a supremacia brasileira em se tratando da produção de etanol de primeira geração. Mas, apesar de toda experiência, o Brasil perdeu liderança mundial para os Estados Unidos, maior produtor atual de etanol, e novos desafios são postos ao país constantemente(OLIVEIRA, 2009).

O Brasil e os Estados Unidos se destacam como produtores mundiais de etanol, juntos são responsáveis por mais de 70% da produção global. Os custos de produção variam de acordo com o valor das diferentes culturas usadas em cada país e sua escala de produção, com a localização e o tipo de tecnologia empregada, com os custos para a fermentação e destilação do produto final e ainda com o modo de operação utilizado na alocação e destino dos resíduos. O Brasil é considerado o país que possui os menores custos para a produção de etanol no mundo, pois utiliza como matéria-prima a cana-de-açúcar e possui a tecnologia de produção desenvolvida (OLIVEIRA, 2009). No Brasil, aproximadamente 79% do etanol combustível é produzido a partir do caldo de cana-de-açúcar e o restante a partir de melaço

gerado da fabricação do açúcar (WILKIE, RIEDESEL e OWEND, 2000). No entanto, o Brasil encontra-se em uma posição desconfortável por ser um grande produtor global de etanol sem conseguir ter o bastante para atender a própria demanda.

Conforme dados divulgados pelo ICNA (2014), a produção mundial de etanol em 2012 foi de 85,2 bilhões de litros conforme pode-se visualizar na Figura 2.2.

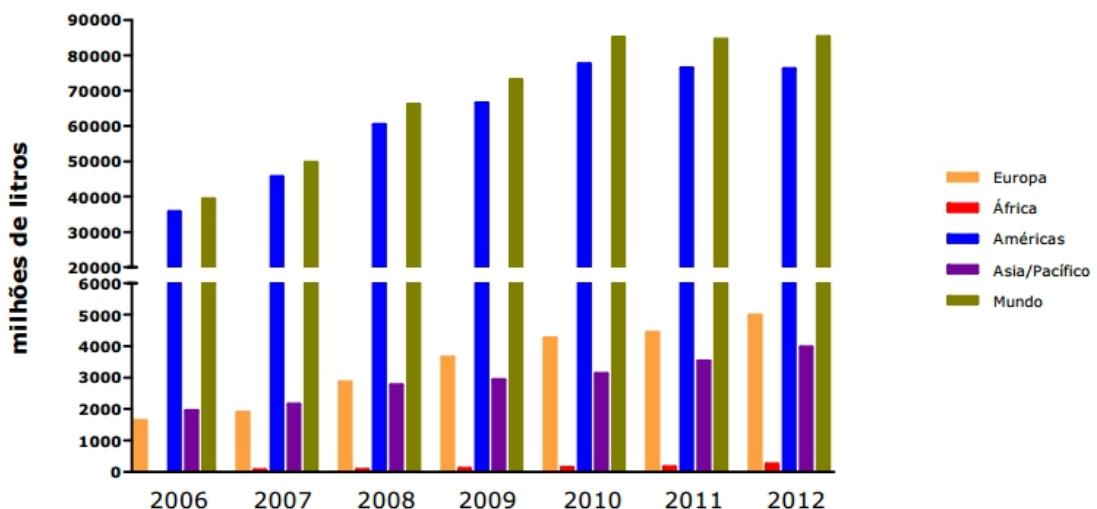


Figura 2.2 - Produção mundial de etanol (em milhões de litros) (ICNA, 2014)

A Figura 2.2 mostra uma evolução positiva do volume mundial produzido de 0,9% entre 2011 e 2012. Além disso, revela duas situações: incremento de, aproximadamente, 12% na Europa; 13% na Ásia; 56% na África; e de redução de 0,5% nas Américas. Em 2006, a produção da África era nula e, apesar dos reduzidos níveis apresentados em relação às demais regiões, foi a que registrou maior crescimento relativo no período. Na América Latina, Brasil, Argentina e Colômbia são os únicos países a constarem entre os principais produtores de etanol e de biodiesel no mundo (GLOBAL, 2014).

O Brasil possui uma situação energética bastante privilegiada quando comparada a outros países, tanto em termos de disponibilidade de recursos como pelo caráter “limpo” de sua matriz energética. Esta elevada participação de fontes renováveis de energia na matriz brasileira se deve à utilização em larga escala da hidroeletricidade e da biomassa como combustível, principalmente após a revolução dos veículos bicompostíveis, os chamados “flex fuel” que a partir de 2003 acentuou o aumento da frota de veículos movidos a etanol hidratado e do anidro adicionado à gasolina. O etanol é utilizado em mistura com gasolina no Brasil, EUA, UE, México, Índia, Argentina, Colômbia e, mais recentemente, no Japão. O uso

exclusivo de álcool como combustível está concentrado no Brasil (LUO, VAN DER VOET e HUPPES, 2009).

O Brasil apresenta uma série de vantagens que o qualificam a liderar a agricultura de energia e o mercado da bioenergia – o biomercado – em escala mundial. A primeira é a possibilidade de dedicar novas terras à agricultura de energia, sem necessidade de reduzir a área utilizada na agricultura de alimentos, e com impactos ambientais circunscritos ao socialmente aceito. Além disso, em muitas áreas do País, é possível fazer múltiplos cultivos sem irrigação, em um ano. Com irrigação, essa possibilidade amplia-se muito. Por situar-se, predominantemente, nas faixas tropicais e subtropicais, o Brasil recebe durante todo o ano intensa radiação solar, que é base da produção de bioenergia. Além disso, o País tem ampla diversidade de clima e exuberância de biodiversidade, além de possuir um quarto das reservas de água doce (LORA e ANDRADE, 2009).

Entre as matérias-primas renováveis a cana-de-açúcar possui a maior produtividade por hectare para o etanol. No país, a cana pode ser colhida cinco ou seis vezes antes do replantio devido ao elevado rendimento. A Índia, grande produtor mundial de açúcar, realiza duas ou três colheitas antes do replantio. Além disso, a produtividade da cana-de-açúcar cresceu significativamente nos últimos 30 anos devido, principalmente, ao desenvolvimento de novas cultivares e as novas formas de manejo no plantio e colheita (LUO, VAN DER VOET e HUPPES, 2009).

No Brasil, o uso de etanol como combustível, teve suas primeiras experiências iniciadas por volta da década de 1920. No entanto, o etanol passou a ser usado como aditivo à gasolina, a partir do início da década de 30. O Decreto 19.717, de 20 de Fevereiro de 1931, foi o primeiro que obrigou a mistura de etanol à gasolina, estabelecendo um percentual de 5% de etanol anidro de procedência nacional na gasolina importada consumida no Brasil (SCANDIFFIO, 2005).

Com o objetivo de financiar usinas e promover o aumento da produção de açúcar e de etanol, o Instituto do Açúcar e do Álcool (IAA) foi criado em 1933, viabilizando financiamentos de destilarias anexas às usinas de açúcar e estabelecendo metas de produção e os preços da cana, do açúcar e do etanol. Em 1938, a mistura de 5% de etanol à gasolina foi estendida para toda gasolina produzida no país, decorrente do início da operação da primeira refinaria de Petróleo do Brasil (SIQUEIRA et al., 2008). A Tabela 2.1 apresenta o histórico do uso de etanol em mistura com gasolina.

Tabela 2.1 - Histórica do uso de etanol em mistura com gasolina (adaptado de SILVA, 2010)

Períodos	Teor Alcoólico (% AEAC)	Abrangência
1931 a 1966	0% < AEAC > 5%	BR
1976 a Julho 1976	25	BR
Julho 1976 A Junho 1977	10% < AEAC > 15% 18% < AEAC > 20%	PE/AL/PR/SP SP (Região Metropolitana)
Junho 1977 a set. 1977	10% < AEAC > 15% 18% < AEAC > 20% 10% < AEAC > 12%	PE/ AL / SP SP (Região Metropolitana) RJ/ PR/ CE
Set.1977 a Fevereiro 1978	10% < AEAC > 12% 18% < AEAC > 20%	RJ/ PR/ CE RN/ PB/ PE/ AL/ SP/ MG (Sul)
Fevereiro 1978 a Abril 1978	10% < AEAC > 12% 18% < AEAC > 20% 20% < AEAC > 23%	RJ/ PR SP/ MG (Sul) Nordeste
Abril 1978 a Julho 1978	10% < AEAC > 12% 18% < AEAC > 20% 20% < AEAC > 23%	RJ/ PR SP/ MG (Sul) Nordeste (exceto CE/ RN/ PB/ PE/
Julho 1978 a Abril 1981	20%	Centro / Sul/ Norte / Nordeste
Abril 1981 a Agosto 1981	12%	Centro / Sul/ Norte / Nordeste
Agosto 1981 a Janeiro 1982	15%	BR
Janeiro 1982 a Junho 1984	20%	
Junho 1984 a Março 1989	22%	
Março 1989 a Agosto 1989	18%	
Agosto 1989 a Julho 1990	13%	BR (exceto SP-Região Metropolitana)
	22%	SP - Região Metropolitana
Julho 1990 a Set.1992	13%	BR (exceto SP-Região Metropolitana)
	22%	SP - Região Metropolitana / Área abastecida pela Refinaria de Manguinhos
Set.1992 a Outubro 2001	22% < AEAC > 24%	BR
Outubro 2001 a Janeiro 2003	24% < AEAC > 25%	
Janeiro 2003 a Maio 2003	20%	
Maio 2003 a Outubro 2005	25%	
Outubro 2005 a Fevereiro 2006	25%	BR
	20%	Área abastecida a partir do Município de Manaus
Fevereiro 2006 a Nov.2006	20%	BR
Nov.2006 a Junho 2007	23%	
Junho 2007 a Janeiro 2010	25%	
Fevereiro 2010	20%	
Março 2013	25%	BR

Desta forma, com a crise energética nacional deflagrada pelo aumento do preço do petróleo, o governo militar brasileiro repensou a política energética nacional, tomando para si a responsabilidade de reverter o estilo de desenvolvimento com base na dependência externa, e diversificou a atuação da indústria açucareira com grandes investimentos apoiados pelo Banco Mundial, possibilitando a ampliação da área plantada com cana-de-açúcar e a implantação de destilarias de etanol (BARCELOS, 2012).

A experiência serviu como alternativa para diminuir a vulnerabilidade energética do país, devido à crise mundial do petróleo. O desenvolvimento da engenharia nacional, após o segundo choque do petróleo, em 1979, permitiu o surgimento de motores especialmente desenvolvidos para funcionar com etanol hidratado. Em 1984, os carros a etanol passaram a representar 94,4% da produção das montadoras instaladas no Brasil (UNICA, 2013).

Em 1986, iniciou-se um novo período, denominado “contra choque do petróleo”, que colocou em xeque os programas de substituição de hidrocarbonetos fósseis e de uso eficiente da energia em todo o mundo, pois os preços do barril de óleo bruto passaram de um patamar de US\$ 30 a 40 para um nível de US\$ 12 a 20. Na política energética brasileira, seus efeitos foram sentidos a partir de 1988, coincidindo com um período de escassez de recursos públicos para subsidiar os programas de estímulo às alternativas energéticas, resultando num sensível decréscimo no volume de investimentos nos projetos de produção interna de energia. (BARCELOS, 2012; FIGUEIRA, 2005).

Após ascensão e declínio, quando o Proálcool parecia fadado ao fracasso, o programa ganhou novo fôlego, derivado em parte devido ao novo aumento do preço do petróleo no mercado internacional, da conscientização vinda do Protocolo de Kyoto e do surgimento dos veículos bicompostíveis (FIGUEIRA, 2005).

Segundo Barcelos (2012), a nova alta do petróleo trouxe à tona novamente a discussão da dependência do combustível fóssil, estimulando o debate e a busca de fontes alternativas renováveis de energia. Houve também a maior conscientização do Protocolo de Kyoto (1997), tratado internacional, cujo objetivo principal foi conseguir que os países desenvolvidos reduzissem em 5% a emissão de gases causadores do efeito estufa em relação ao nível de emissão de 1990, entre 2008 e 2012, e reativou os projetos de substituição de combustíveis fósseis pelos renováveis, que são menos poluentes. Em março de 2003, foi lançado no mercado brasileiro o veículo bicompostível, movido tanto a álcool como a gasolina, tecnologia conhecida como “flex fuel”. A demanda interna por etanol aumentou e continua aumentando. Assim, o Brasil tem um dos seus maiores desafios que é atender às crescentes

demandas externa e interna (ROSILLO-CALLE e CORTEZ, 1998; HIRA e OLIVEIRA, 2009)

Atualmente, a área cultivada com cana-de-açúcar, colhida na safra 2012/13, e destinada à atividade sucroalcooleira é de 8.485,0 mil hectares, distribuídas em todos estados produtores conforme suas características. O estado de São Paulo é o maior produtor com 52,07% (4.419,48 mil hectares), seguido por Goiás com 8,55% (725,91 mil hectares), Minas Gerais com 8,51% (721,88 mil hectares), Paraná com 7,20% (610,83 mil hectares), Mato Grosso do Sul com 6,34% (542,70 mil hectares), Alagoas com 5,25% (445,71 mil hectares) e Pernambuco com 3,68% (312,09 mil hectares). Nos demais estados produtores as áreas são menores, com representações abaixo de 3%. A área nacional de cana-de-açúcar, da safra 2013 destinada à produção sucroalcooleira, apresentou um crescimento de 1,5% ou 123 mil hectares em relação à safra 2012. O aumento de área aconteceu na região Centro-Sul, que teve uma majoração de 2% ou 146,31 mil hectares devido à expansão mencionada anteriormente (BARCELOS, 2012).

Na Região Nordeste a área caiu 2,8% ou 31,3 mil hectares este ano, devido à falta de renovação dos canaviais, pela dificuldade de uso de maquinário devido a topografia acidentada e a dificuldade de mão de obra. A produção total de etanol na safra 2012/13 foi de 23,64 bilhões de litros, 0,91% maior que a produção da safra 2011/12. Deste total, 9,85 bilhões de litros foram de etanol anidro, e 13,79 bilhões de litros foram de etanol hidratado. Assim, o etanol anidro teve um aumento de 1,8% na produção, e o etanol hidratado de 0,28%, quando comparados com a produção de etanol da safra anterior. A produção de etanol nas Regiões Norte e Nordeste representa 7,8% da produção brasileira de 2012/13, com o volume de 1,85 bilhões de litros. O consumo interno, que absorve 85% do etanol brasileiro também cresce, acompanhando as vendas de carros flex, frota esta que aumenta 17% ao ano, sendo que 90% dos carros novos vendidos no Brasil são flex (CONAB, 2014). A Figura 2.3 reproduz as projeções da produção de etanol da Empresa de Pesquisa Energética - EPE (2008-2017), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA e da União da Indústria da Cana-de-açúcar - UNICA (Silva, 2010).

Considerando que as produtividades de cana e de etanol no período avaliado se mantenham nos patamares médios, 85 ton/ha para cana e 82 l/ton para etanol, as projeções calculadas apontam para necessidade de cerca de 9,2 milhões de hectares de áreas para suprir a demanda de etanol em 2017, calculada pela EPE (2008). Vale ressaltar que os cálculos realizados consideram que todo o ATR (açúcar total recuperável) da cana é convertido em

etanol, logo, as projeções de áreas são restritas para suprir a produção de etanol, não levando em consideração a produção de açúcar.

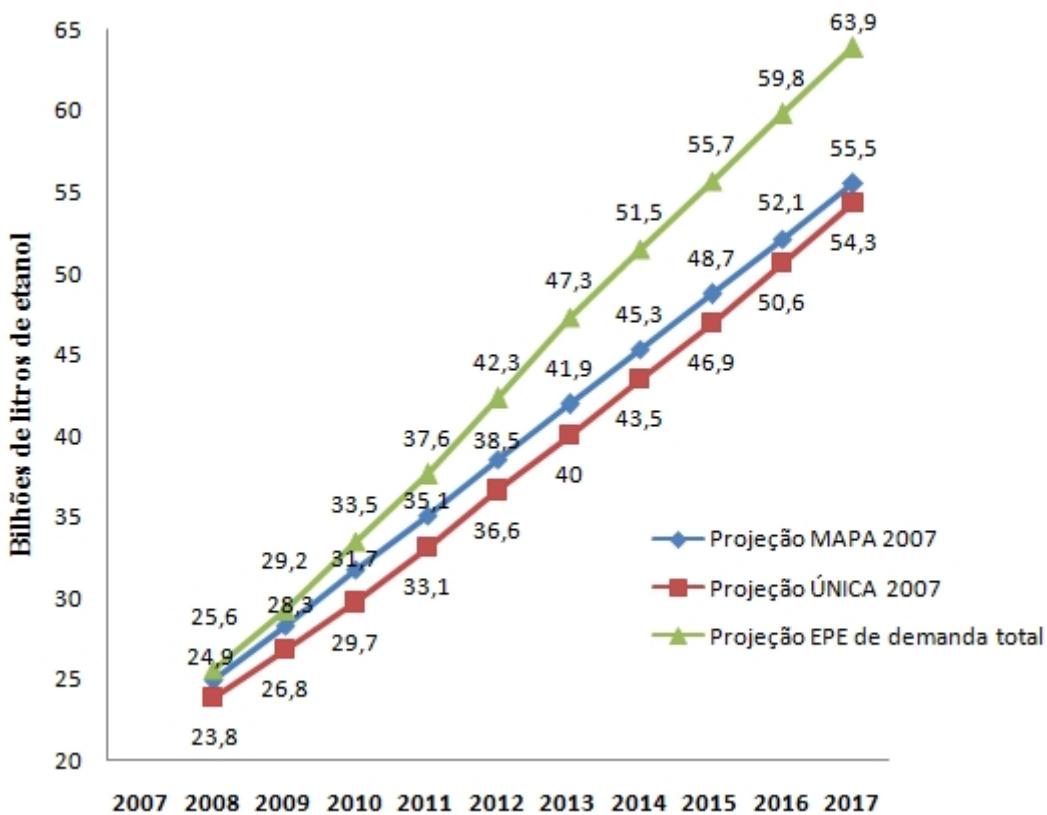


Figura 2.3 - Projeções da produção de etanol - EPE 2007, MAPA 2007 e UNICA 2007 (Silva, 2010)

O estabelecimento de metas extremamente ambiciosas para aumento do consumo do etanol nos próximos anos, principalmente nos países desenvolvidos requer um aumento substancial da produção de etanol e, nesse sentido, estimula a pesquisa e o desenvolvimento de novas matérias-primas para o etanol (EMBRAPA, 2009).

2.2 Matérias-primas para produção de etanol

Um dos principais enfoques de pesquisa no desenvolvimento de biocombustível viável e processos de produção química de valor agregado é a seleção e melhoria de matéria-prima. Qualquer produto que contenha uma quantidade considerável de carboidratos constitui-se matéria-prima para produção de etanol. Para que seja viável economicamente, é preciso considerar o seu volume de produção, rendimento industrial e o seu custo de fabricação (LEITE e LEAL, 2007).

De acordo com o tipo de carboidrato presente nas matérias-primas elas podem ser classificadas como amiláceas que possuem polissacarídeos insolúveis, em que há a necessidade de pré-tratamento para solubilização e hidrólise, advindos estes do milho, mandioca, trigo, cevada, batata e outros (MUSSATTO et al., 2010; ALMODARES e HADI, 2009), açucaradas que possuem substratos solúveis tais como sacarose, glicose, frutose e lactose que podem ser facilmente extraídos e convertidos em produtos e são provenientes da cana-de-açúcar, melaço, beterraba sacarídea, soro de leite e o sorgo sacarino. Já as matérias-primas celulósicas que possuem polissacarídeos insolúveis, provenientes de materiais de natureza celulósica, hemicelulósica e lignocelulósica, são oriundas de vegetais, que necessitam de pré-tratamento físico e químico vigorosos(WU et. al, 2010; HUZ, FANG e WANG, 2004 ; HUZ et al , 2004b ; KIM e DALE, 2002; KIM e DALE , 2005; PIMENTEL, 2003). Na Figura 2.4 pode-se observar as diferentes rotas tecnológicas para a produção de etanol de diferentes matérias primas.

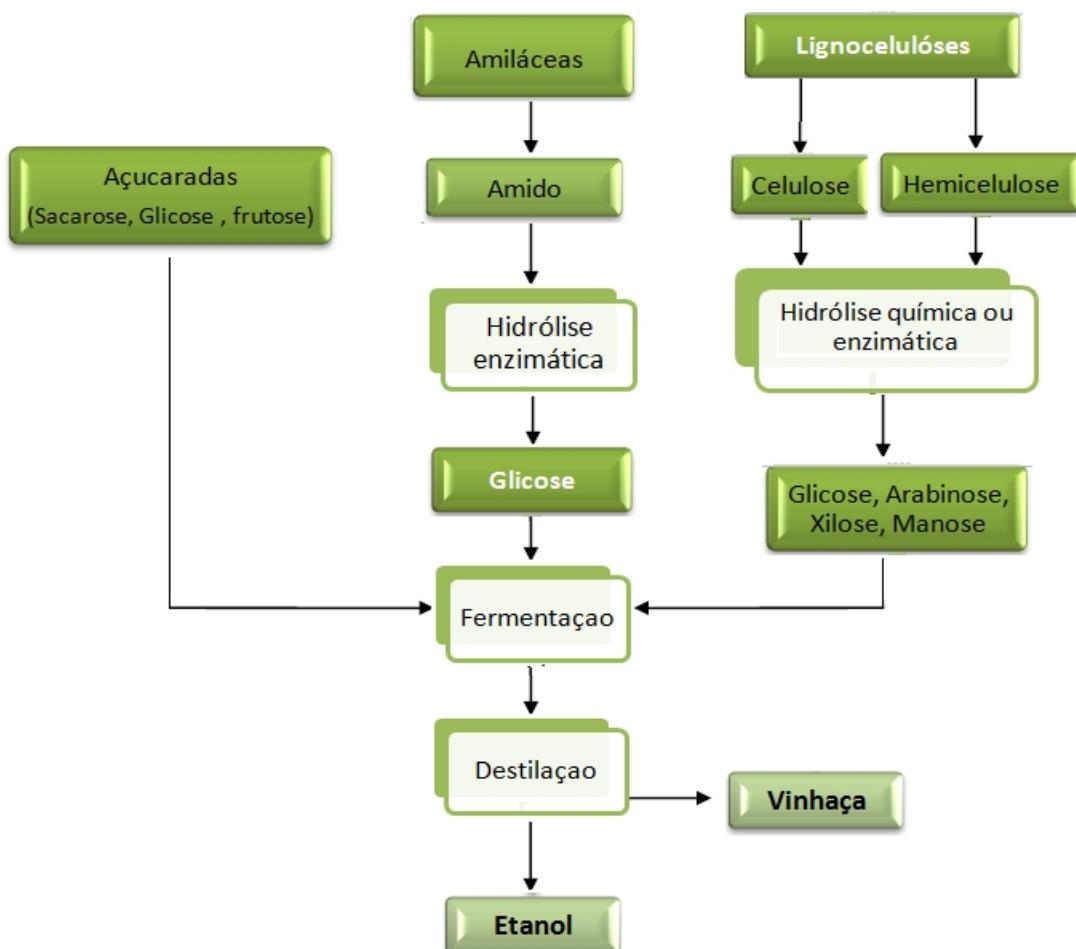


Figura 2.4 - Rotas tecnológicas para produção de biocombustíveis (EMBRAPA, 2009)

2.2.1 - Matérias-primas sacarinas

As matérias-primas açucaradas podem ser classificadas como diretamente fermentáveis e as não diretamente fermentáveis. As diretamente fermentáveis são as que contêm em sua composição monossacarídeos e dissacarídeos e não precisam de nenhuma transformação para serem absorvidas e transformadas em etanol pelos microrganismos. Como exemplo pode-se citar as trioses, tetroses e hexoses e inclui-se nestas categorias a eritrose ($C_4H_6O_3$), glicose ($C_6H_{12}O_4$) e a frutose ($C_6H_{12}O_4$). As que contém somente estes açúcares não são utilizadas no processo industrial de produção de etanol, devido ao seu alto custo. Sua importância reside na produção de álcool em bebidas como o vinho e a cidra (LIMA et al., 2010).

As não diretamente fermentáveis são as que contêm açúcares de fórmulas $C_{12}H_{22}O_{11}$ (sacarose, maltose e lactose) e rafinose ($C_{18}H_{32}O_{16}$). A característica destes açúcares é que eles fermentam após uma hidrólise, a qual se dá o nome de inversão, e que se realiza naturalmente por ação da invertase, enzima produzida pelo agente de fermentação. O dissacarídeo sacarose é o representante mais importante dos componentes da cana-de-açúcar e dos melaços (LIMA et al., 2010).

As plantas denominadas sacarinas são as que apresentam alto teor de sacarose que é um dissacarídeo não-redutor, formada por D-glicose e D-frutose unidas por meio de seus carbonos anoméricos, mediante ligação glicosídica, podendo ser hidrolisada, extracelularmente, pela invertase (β -D-fructosidase) secretada, originando uma mistura equimolar de glicose e frutose, ou ser transportada diretamente para o citoplasma e posteriormente é hidrolisada pela invertase intracelular (BRACELOS, 2012).

Entre as plantas que produzem açúcares diretamente fermentáveis, além da cana-de-açúcar, de que se obtém o principal componente da matriz brasileira de biocombustíveis, destaca-se ainda a beterraba sacarina (*Beta vulgaris*). Essa hortaliça tem uma raiz tuberosa com cerca de 18% de sacarose na qual acumula quantidades elevadas de açúcar, apresentando produtividade entre 50 e 100 toneladas por hectare, podendo alcançar índices de produtividade agroindustriais bastante elevados, da ordem de 7.500 litros de bioetanol por hectare, similares à cana-de-açúcar. O processamento industrial da beterraba açucareira se inicia com sua limpeza, corte e extração da sacarose pelo processo de difusão em água aquecida. O caldo obtido contém aproximadamente 16% de sólidos solúveis sendo então processado de forma análoga ao caldo de cana-de-açúcar, para a obtenção de açúcar ou para

obtenção de bioetanol. Uma tonelada de beterraba açucareira produz 86 litros de bioetanol e 51 kg de torta fibrosa que pode ser utilizada para alimentação animal (EMBRAPA, 2009).

A Tabela 2.2 apresenta a composição de algumas matérias-primas sacarinas empregadas para a produção de etanol.

Tabela 2.2 - Composição percentual média de matérias-primas sacarinas (BARCELOS, 2012)

	Caldo de Cana-de-açúcar	Melaço de Cana-de-açúcar	Caldo Sorgo Sacarino	Beterraba Sacarina
Água	75-88	17-25	84	82
Sacarose	10-21	30-40	8,5-15,4	12,4
Frutose	0,3-2,5	5-12	1,2	---
Glicose	0,3-2,5	4-9	2,1	---
Amido	0,001-0,05	---	0,5	0,3
Proteína	0,5-0,6	---	---	---

No Brasil, a produção de etanol é proveniente principalmente da fermentação do caldo de cana-de-açúcar. Porém a produção de etanol a partir da cana-de-açúcar tem limitações principalmente em áreas de precipitação reduzida, o que evidencia a necessidade de inserção de novas matérias-primas para produção de etanol.

2.2.2 Matérias-primas amiláceas

As matérias-primas amiláceas possuem em sua composição o amido, um polissacarídeo de fórmula geral ($C_6H_{10}O_5$)_n, considerado o polissacarídeo de reserva mais importante em plantas superiores e o mais abundante na natureza, só competindo em quantidade com a celulose. É originado nas células de plantas como raízes tuberosas, folhas, rizomas, sementes, frutas. Apresenta-se na forma de grânulos com formato e tamanho dependentes da sua fonte botânica, as formas dos grânulos variam desde 0,5 até 175 μm (BARCELOS 2012).

O amido é formado nos plastídios das plantas superiores, é sintetizado nas folhas, em que serve como carboidrato de reserva temporário, acumulando-se nos cloroplastos durante o dia e servindo como fonte principal para a síntese de sacarose citosólica durante a noite. Essa sacarose é então transportada para os órgãos de armazenamento das plantas, como sementes, frutas, tubérculos e raízes. Como exemplos de matérias-primas amiláceas tem-se o milho, sorgo

granífero, arroz, cevada, trigo, aveia, centeio, mandioca, cará, batata-doce, batata-inglesa, araruta, raiz de girassol, coco de babaçu e etc (TESTER e KARKALAS, 2004).

O amido é composto basicamente por dois tipos de macromoléculas: a amilose e amilopectina. A amilose é o polímero linear em que as sub-unidades estão unidas por ligações glicosídicas α -1,4. A amilopectina é um polissacarídeo ramificado, em que as ligações lineares das cadeias são do tipo a-1,4 e as ligações das ramificações, que ocorrem de 12 em 12 sub-unidades, são do tipo α -1,6 (BULÉON et al., 1998).

Para que ocorra a fermentação etanólica desta matéria-prima, é necessária a hidrólise prévia, denominada sacarificação, que transforma o amido ou a fécula em açúcares fermentescíveis. A sacarificação pode ser química ou enzimática. No caso da fermentação etanólica, as leveduras não possuem as amilases, que são enzimas responsáveis pela hidrólise do amido. Por essa razão, é necessária a hidrólise prévia do amido, desdobrando-o em açúcares menores e solúveis (HANSEN et al., 2008).

Entre as matérias-primas amiláceas, o milho e a mandioca são as mais empregadas atualmente para a produção de etanol à base de amido. Os Estados Unidos são os maiores produtores de etanol a partir do milho e a Tailândia a partir de mandioca (SAXENA, ADHIKARI e GOYAL, 2009). O bioetanol de milho pode ser produzido por meio de dois processos, adotando moagem úmida ou seca. O processo de produção por via úmida era a opção mais comum até os anos 1990, mas atualmente o processo de produção por via seca, apresenta custos de investimentos e operacionais menores, reduzindo consideravelmente o custo final do bioetanol, consolidando-se como o processo mais utilizado para a produção do bioetanol utilizando como matéria-prima o milho.

No processo úmido, apresentado na Figura 2.5, as diferentes frações do grão do milho são separadas, possibilitando a recuperação de diversos produtos, como proteínas, nutrientes, gás carbônico (utilizado em fábricas de refrigerantes), amido e óleo de milho. Enquanto o óleo de milho é o produto mais valioso, o amido e, por conseguinte, o bioetanol, é aquele produzido em maior volume, com rendimentos ao redor de 440 litros de bioetanol por tonelada seca de milho. Já no caso da via seca, o único coproduto do bioetanol é um suplemento proteico para alimentação animal conhecido como DDGS (Distillers Dried Grains With Solubles) (EMBRAPA, 2009).

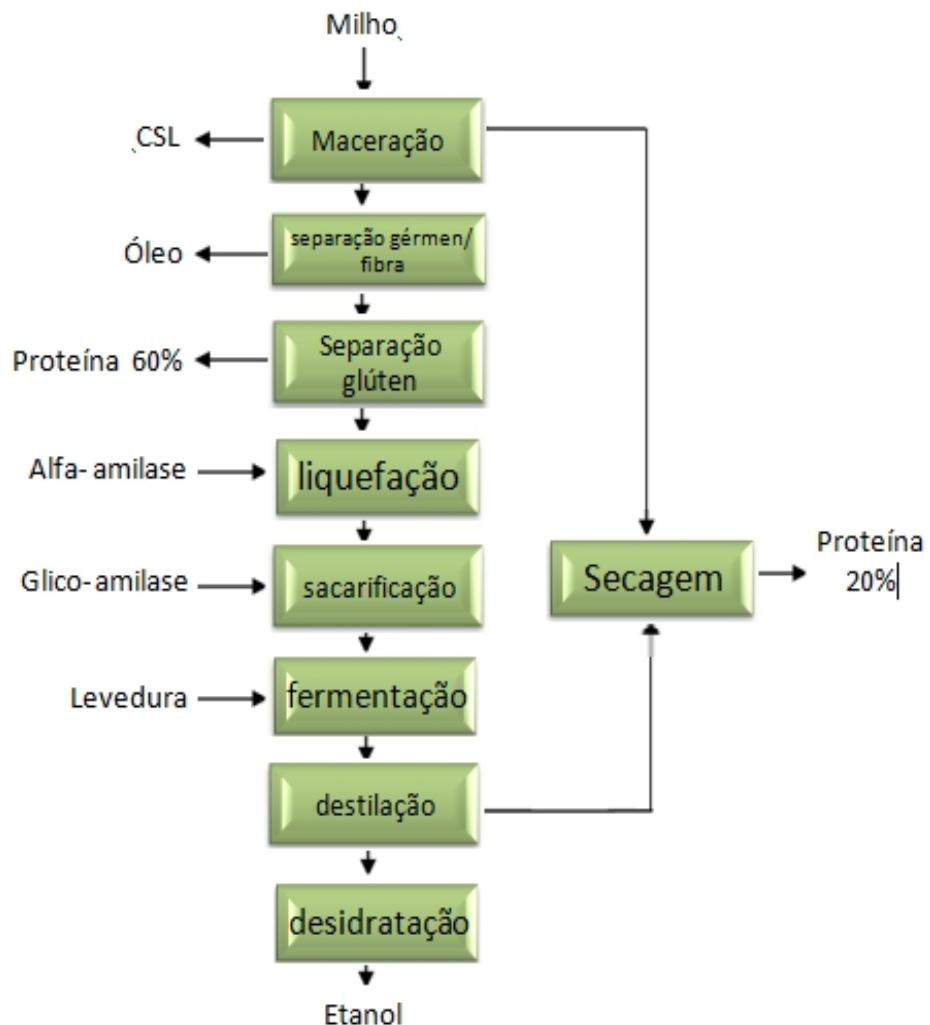


Figura 2.5 - Fluxograma geral do processo de obtenção de bioetanol de milho (via úmida) (EMBRAPA, 2009)

A Figura 2.6 apresenta o fluxograma básico para obtenção do bioetanol pela via seca. A etapa crítica do processo é aquela referente à hidrólise do amido a açúcares fermentáveis que pode chegar até a 72 horas. Processo desenvolvido recentemente reduz drasticamente esse tempo e consiste em se ter a sacarificação e a fermentação ocorrendo simultaneamente. Para cada tonelada de matéria seca de milho são obtidos cerca de 460 litros de bioetanol anidro e 380 kg de DDGS (EMBRAPA, 2009).

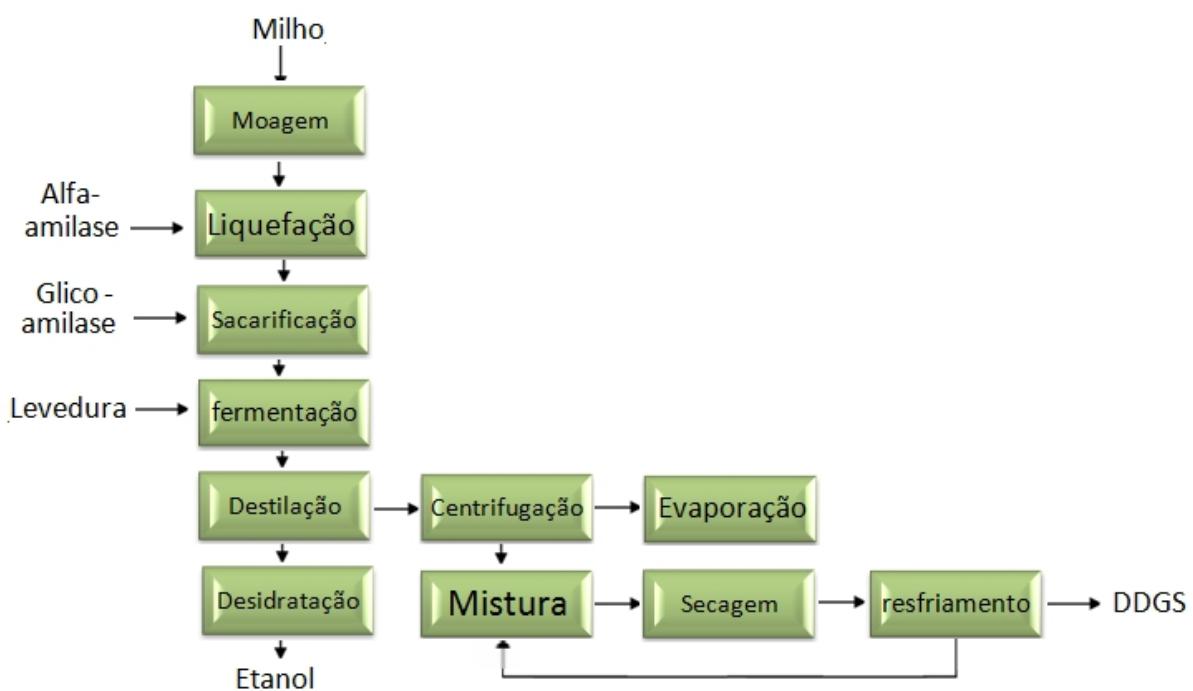


Figura 2.6 - Fluxograma geral do processo de obtenção de bioetanol de milho (via seca)
(EMBRAPA, 2009)

2.2.3 Matérias-primas celulósicas

As matérias-primas celulósicas são formadas, em linhas gerais, de três constituintes principais: celulose, hemicelulose, lignina e uma pequena quantidade de outros compostos. Em geral, a celulose é a maior porção e representa cerca de 40 a 50 % do material, em massa. A quantidade de hemicelulose representa de 20 a 40 % do material. As partes remanescentes são formadas predominantemente por lignina e uma quantidade menor de extratos (BARCELOS, 2012).

Uma das dificuldades de conversão deste tipo de biomassa em biocombustíveis ou outros produtos de interesse vem do fato de que estes materiais apresentam uma complexa estrutura morfológica e estruturas estas responsáveis por criar uma barreira natural contra a ação de microrganismos e/ou enzimas, tornando esses materiais estruturalmente rígidos e pouco reativos. Grande parte da dificuldade de obter álcool da celulose consiste, precisamente, em atingir objetivos que estão em contradição com a própria natureza das plantas, e consiste em quebrar esta barreira por meio da hidrólise. Os processos de obtenção de etanol de biomassa por meio de hidrólise seguem, em linhas gerais, o esquema apresentado na Figura 2.5, o qual permite observar que a produção de etanol com materiais lignocelulósicos envolvem uma

série de etapas que não são necessárias nos processos utilizados em que os açúcares já se encontram disponíveis no caldo para fermentação, o que faz com que este etanol tenha um custo maior.

2.3 Sorgo

A planta de sorgo sofreu intervenção do homem, que domesticou a espécie e, ao longo de gerações, transformando-a para satisfazer as necessidades humanas. O sorgo originou-se no quadrante Noroeste da África em que se encontra, atualmente, sua maior variabilidade em espécies silvestres e cultivadas. Possivelmente o sorgo foi domesticado na Etiópia há 7.000 anos, pela seleção de espécies silvestres (*Sorghum arundinaceum* ou *Sorghum verticilliflorum*) e distribuído por rotas de comércio por toda a África, e do Oriente Médio à Índia há cerca de 3000 anos. Da Índia, o sorgo alcançou a China pela rota da seda no século III d.C. (SANTOS, CASELA e WAQUIL, 2005).

A introdução do sorgo nas Américas é bem mais recente. As primeiras introduções ocorreram no Caribe, trazidas por escravos africanos, e desta região o sorgo atingiu o Sudoeste dos Estados Unidos por volta da metade do século XIX. Nos Estados Unidos, atualmente o maior produtor mundial de grãos de sorgo, a primeira lavoura de sorgo plantada de que se tem notícia ocorreu em 1853. Com o advento da mecanização na segunda década do século XX, novas seleções foram sendo feitas a partir dos materiais originais, que acrescentaram mais valores às cultivares como precocidade e porte cada vez mais baixos. Mas foi a partir da década de 40, com o surgimento dos chamados "combine types" ou sorgos graníferos como se conhece hoje, que a cultura tomou um significativo incremento em várias regiões do Oeste dos EUA. O sorgo híbrido surgiu no início dos anos 60 e tornou-se um incontestável sucesso nos EUA e a nova tecnologia rompeu suas fronteiras, tornando-se rapidamente uma cultura muito popular em diversos países como: Argentina; México; Austrália; China; Colômbia; Venezuela; Nigéria; Sudão; Etiópia. No Brasil, em que o sorgo foi mais recentemente introduzido, seu cultivo está se popularizando e se tornando um dos 10 maiores produtores mundiais. Em todo o mundo, a combinação de potencial genético e o uso de práticas de cultivo como fertilização adequada, controle de doenças, insetos e plantas daninhas; manejo da água de irrigação; zoneamento agroclimático e altas populações de plantas, tem propiciado altos rendimentos de grãos e forragem em regiões e condições ambientais desfavoráveis para a maioria dos cereais (RIBAS, 2003).

Em termos globais, o sorgo é o quinto cereal mais importante do mundo, base alimentar de mais de 500 milhões de pessoas em mais de 30 países. Os grãos são amplamente utilizados na alimentação humana em países da África e Ásia, sendo no Ocidente utilizado na alimentação animal e na elaboração de xarope, álcool e açúcar (CAVAZZA, VENTURI e ANADUCCI, 1983; TEIXEIRA, JARDINE e BEISMAN, 1997).

Em termos de área, a Índia (com 7,5 milhões de hectares) é o maior produtor de sorgo do mundo, seguido pela Nigéria (com 7,6 milhões de hectares) e Sudão (6,6 milhões de hectares). A Índia é o terceiro maior produtor depois dos EUA e da Nigéria (SRINIVASA et al., 2009).

No Brasil, o sorgo é destinado, principalmente, à produção de ração animal, e seu cultivo cresce tanto em área plantada quanto em produtividade. Na safra 2010/2011, foram 2,019 milhões de toneladas de grãos em 782,4 mil ha de área plantada, com produtividade de 2,58 t/ha. É cultivado, principalmente, na região Centro-Oeste, que detém 61,3% da colheita nacional, ou seja, 1,238 milhão de toneladas. Em seguida, ficam as regiões Sudeste (22,9%), Nordeste (11,5%), Sul (2,5%) e Norte (1,8%). Enquanto o Centro Oeste é a principal região produtora de sorgo granífero, o Sul e o Sudeste se destacam no cultivo de sorgos forrageiros (CONAB, 2011).

Para Bahia Filho et al. (2008), o crescimento da produção de sorgo ocorreu, principalmente, nos últimos 10 anos, com a concentração da área plantada nas regiões Sudeste e Centro Oeste, na época da safrinha, ou 2^a safra. Geralmente, plantadas após a época ideal para o milho, as lavouras de sorgo são conduzidas em condições mais adversas do que as normalmente verificadas para essa época de plantio. Essa situação tem desestimulado a utilização de tecnologias que conduzem ao aumento da produtividade e estimulado a adoção de sistemas de produção com foco na redução de custos, o que subestima seu potencial produtivo.

No entanto, a cultura do sorgo deve sofrer grande expansão devido aos avanços na utilização do sorgo sacarino como matéria-prima para a produção de etanol. Esse segmento pode se concretizar, em pouco tempo, como um importante fornecedor no mercado de energia renovável. Outros países também veem no sorgo sacarino uma alternativa real para o domínio completo da produção e uso do etanol, a China, Índia, União Europeia, EUA, e vários países da África são exemplos (MARCOCCIA, 2007).

2.3.1 Características da cultura do sorgo

O sorgo é uma planta da família Gramineae, monocotiledônea, do gênero *Sorghum*, e a espécie cultivada é *Sorghum bicolor* (L). Moench. Dentro do gênero *Sorghum*, há uma enorme diversidade de tipos, porém sua estrutura básica apresentada na Figura 2.7, e sua forma de desenvolvimento são praticamente as mesmas em todos os tipos (FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 2009).

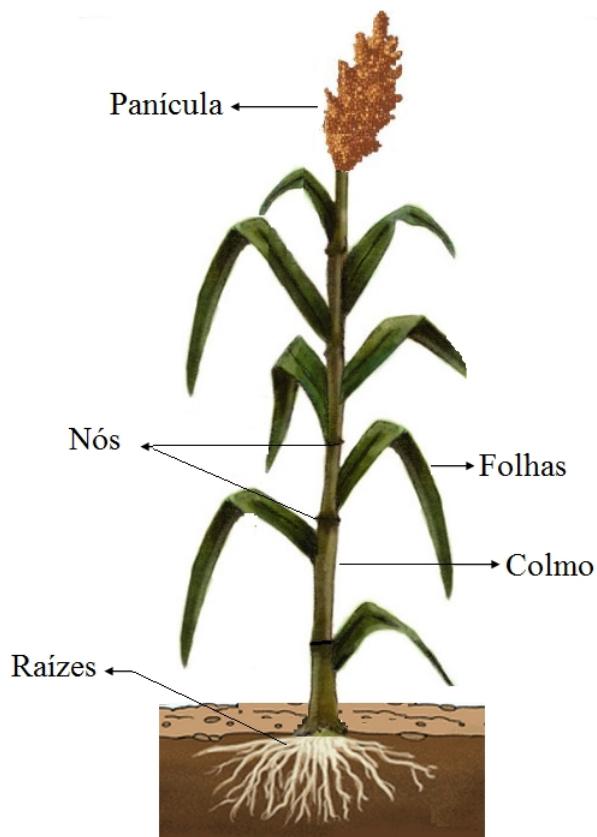


Figura 2.7 - Planta de sorgo

O sorgo tem maior tolerância ao déficit de água e ao excesso de umidade no solo do que a maioria dos outros cereais, podendo assim, ser cultivado em ampla faixa de condições de solo. A resistência à seca é uma característica complexa, pois envolve simultaneamente aspectos de morfologia, fisiologia e bioquímica. Existem três mecanismos relacionados à seca: resistência, tolerância e escape. O sorgo apresenta duas características: escape e tolerância. O escape por meio de um sistema radicular profundo e ramificado, o qual é eficiente na extração de água do solo. As raízes possuem sílica na endoderme, grande quantidade de pelos absorventes, altos índices de lignificação de periciclo (PRASAD, et al., 2007). Segundo Magalhães e Durães (2003), o crescimento das raízes de sorgo está

relacionado com a temperatura e é limitado pela falta de umidade no solo e disponibilidade de fotoassimilados oriundos das folhas e podem ser encontradas na planta de sorgo raízes primárias ou seminais, secundárias e adventícias. Essa importante parte da planta pode chegar a até 1,5 m de profundidade (sendo 80% até 30 cm de profundidade no solo), em extensão lateral alcança 2,0 m.

Já a tolerância está relacionada ao nível bioquímico, em que a planta paralisa o crescimento ou diminui as atividades metabólicas durante o estresse hídrico, (MASOJIDEK et al., 1991). Essa paralisação no crescimento faz com que as plantas acumulem fotoassimilados antes da ocorrência do estresse hídrico os quais podem induzir a um nível mais acelerado de crescimento após o término do estresse (DONATÉLLI, HAMMER e VANDERLIP, 1992). O acúmulo de água em maior quantidade nas raízes, colmos e bainhas do que nas folhas, juntamente com uma camada espessa de cera que recobre a epiderme das folhas (cutina), colaboram para uma menor taxa de transpiração e desidratação e maior tolerância ao estresse hídrico, e são estas características morfofisiológicas do sistema radicular que as tornam plantas extremamente tolerantes ao estresse hídrico e a salinidade fazendo que elas sejam mais resistentes à seca do que as demais culturas (VIEIRA, 2006).

O caule por sua vez é dividido em nós e entrenós que desempenham um papel importante na determinação da distribuição vertical da superfície da folha, que é o órgão fotossintético mais importante que produz os hidratos de carbono ao longo de toda a planta. Sua inflorescência é uma panícula e seu fruto é uma cariopse ou grão seco (RAJKUMARA, 2008).

O sorgo tem praticamente as mesmas quantidades de vitaminas que o milho e o trigo, sendo, porém, mais pobre em riboflavina (vitamina B2). Vale ressaltar que esta planta possui tanino e que, a maior concentração desse fenol está no grão e confere a ele a resistência ao ataque de pássaros, entretanto esta substância é adstringente, acarretando ao grão problemas de digestibilidade. A presença do tanino no grão depende da constituição genética. Vale ressaltar que o sorgo vem passando por modificações ao longo do tempo, viabilizando sua comercialização, e que a maioria do sorgo comercializado e semeado no Brasil já se caracteriza por não apresentar tanino, sendo que apenas 4% do sorgo semeado apresentam tanino (TSUNECHIRO, MARIANO e MARTINS, 2002).

O sorgo é, talvez, a cultura mais versátil do mundo. Os grãos são cozidos como arroz, usado em flocos ou farelo como mingau de aveia, “maltados” como a cevada para fabricação de cerveja, cozidos como trigo para produção de pães, “estourados” como pipoca. Alguns

híbridos possuem grãos açucarados e quando verdes, são cozidos como o milho doce. A planta também pode ser usada como forragem ou silagem. Os colmos são utilizados para construção, tecelagem, vassoura e lenha. Também pode ser utilizada para produção de açúcar, xarope e combustíveis líquidos. Os grãos são usados para alimentar aves, suínos e bovinos. No topo disso tudo, o sorgo promete ser uma “fábrica viva”. Álcool industrial, óleo vegetal, colas, ceras, corantes e óleos lubrificantes, são apenas alguns dos produtos que podem ser obtidos deste interessante vegetal (BARCELOS, 2012).

Entre as espécies alimentares, o sorgo é uma das mais versáteis e mais eficientes, tanto do ponto de vista fotossintético, como em velocidade de maturação. Sua reconhecida versatilidade se estende desde o uso de seus grãos como alimento humano e animal, como matéria-prima para produção de álcool anidro, bebidas alcoólicas, colas e tintas. O uso de suas panículas para produção de vassouras, extração de açúcar de seus colmos, até às inúmeras aplicações de sua forragem na nutrição de ruminantes (RIBAS, 2003). O sorgo é uma cultura 100% mecanizável e em sua exploração podem ser utilizados os mesmos equipamentos de plantio, cultivo e colheita utilizados para outras culturas de grãos como a soja, o arroz, o trigo e o milho. Por outro lado, a cultura pode ser também, conduzida manualmente com boa adaptação a sistemas utilizados por pequenos produtores (BARCELOS, 2012).

É uma planta C₄, e por este fato, as folhas dessas plantas apresentam 2 tipos distintos de células fotossintetizantes que são células que absorvem o CO₂ da atmosfera: as células da bainha vascular e as células do mesófilo como pode-se visualizar na Figura 2.8, sendo portanto, plantas de dias curtos e com altas taxas fotossintéticas. As plantas do tipo C₃ só possuem as células fotossintetizantes do mesófilo (DUTRA et al., 2011).

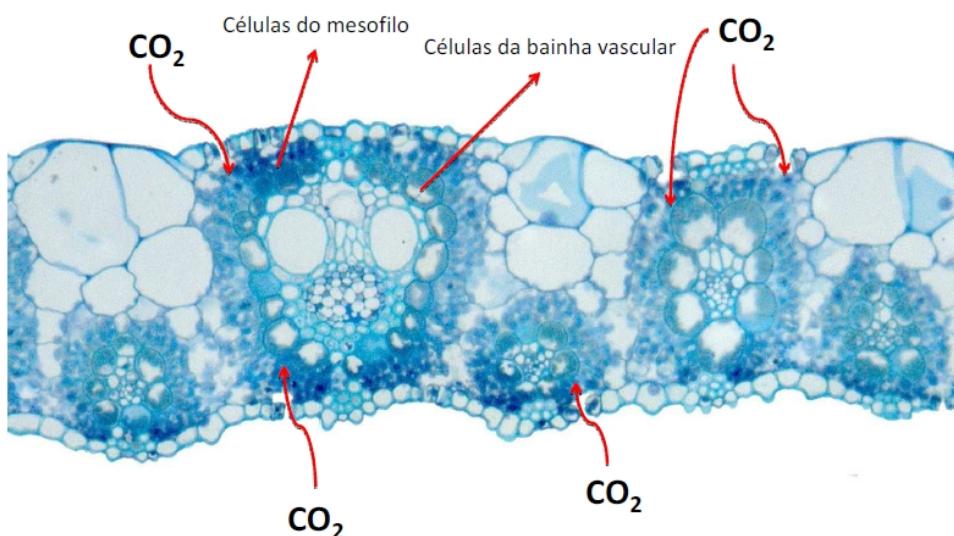


Figura 2.8 - Estrutura de uma planta do tipo C₄(DUTRA et al., 2011)

Essas plantas C₄ evoluíram em zonas tropicais e encontram-se adaptadas a temperaturas muito superiores. Em sua grande maioria, os materiais genéticos de sorgo requerem temperaturas superiores a 21°C para um bom crescimento e desenvolvimento. A planta de sorgo pode ser cultivada em ampla faixa de condições de solo desde déficit até excesso por tolerar mais o déficit de água e o excesso de umidade no solo do que a maioria dos outros cereais (SOUZA et al. 2005.)

2.3.2 Cultivares de sorgo

Agronomicamente, os sorgos são classificados em cinco grupos com características bem distintas: o sorgo granífero, forrageiro, sacarino, vassoura e biomassa (ALMODARES, TAHERI e ADELI, 2008).

O sorgo granífero é cultivado com a finalidade de produção de grãos. É uma planta anual, de porte baixo, com altura entre 0,8 e 1,2 m, selecionada para facilitar a colheita mecanizada, com ciclo de 100 a 120 dias da semeadura à colheita, que produz na extremidade superior uma panícula (cacho) compacta de grãos. O potencial de rendimento de grãos pode ultrapassar 10 ton/ha e 7 ton/ha, respectivamente, em condições favoráveis de verão e em cultivos de sucesso (safrinha). Entretanto as condições em que a cultura normalmente se desenvolve não possibilita a expressão de todo seu potencial (FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 2009).

Seus grãos são arredondados ou ovais, de cores amarelas, brancas ou vermelhas, relativamente grandes (Figura 2.9), com boa palatabilidade. Podem ser utilizados tanto na alimentação humana como ocorre em diversos países africanos e asiáticos, quanto na alimentação animal. Na maioria dos países desenvolvidos, porém, a farinha de sorgo é utilizada como substituto ao milho na produção de rações balanceadas para bovinos, suínos e aves. Podem-se usar os grãos diretamente na alimentação animal, desde que sejam tomadas medidas para facilitar a sua digestão: moagem não muito fina, para evitar empedramento do material ou ainda a simples emersão de grãos em água, para torná-los mais macios e poderem ser mastigados. Podem ainda ser matéria-prima para a produção de etanol, amido, cera, farinha, cerveja e outros produtos (FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 2009).

Dos quatro grupos, o sorgo granífero é o que tem maior expressão econômica no Brasil. Todavia, após a colheita, como o resto da planta ainda se encontra verde, pode ser usada também como feno ou pasto. O rendimento médio no Brasil na safra 2010/2011 foi de 2,5 t/ha, entretanto, o potencial de rendimento em grãos, normalmente, pode ultrapassar 10

t/ha e 7 t/ha, em condições favoráveis no verão e em plantios de sucessão, respectivamente. (BARCELOS, 2012).



Figura 2.9 - Sorgo Granífero

(Fonte: <http://www.flickr.com/photos/51845610@N02/galleries/72157625368510317>)

As cultivares de sorgo granífero são subdivididas em taninosas e não taninosas, aquelas que possuem tanino nos grãos são apontadas, sobretudo para regiões que sofrem com o ataque de pássaros e apresentam umidade relativa elevada durante o período da colheita. A presença de tanino nos grãos é uma característica positiva para a produção agrícola da espécie, no entanto, para a alimentação de animais monagrástricos (aves e suínos), a sua presença é indesejável, devido ao seu efeito negativo na digestão de proteínas por esse grupo de animais. Para os ruminantes, a presença de tanino no grão é diminuída pela ação dos microrganismos existentes no rúmen, embora algumas pesquisas mostrem alterações na retenção de nitrogênio, na absorção de aminoácidos e no consumo de matéria seca pelos animais que se alimentam de sorgo com presença de tanino nos grãos (VAN SOEST, 1994).

Toda planta de sorgo possui aproximadamente os mesmos níveis de proteína, amido, lipídios etc., porém vários compostos fenólicos podem ocorrer ou não. Entre esses compostos, destaca-se o tanino cem quensado, o qual tem ação antinutricional (MAGALHÃES, DURÃES e SCHAFFERT, 2000).

O grão de sorgo varia na sua cor, que vai desde o branco à tonalidades escuras de roxo, passando pelo amarelo até a cor púrpura, mas os mais comuns são o branco e o pardo, sendo geralmente esféricos mas variando de forma e tamanho (VIÉGAS, 2003).

A cor do amido dos grãos de sorgo está relacionada com a intensidade dos pigmentos no pericarpo e nas folhas. A Figura 2.11 apresenta as diferentes cores de grãos de sorgo. Normalmente, o amido dos grãos de sorgo é composto principalmente por amilopectina (75%), mas existem híbridos compostos por 100% de amilopectina e híbridos com altas taxas de amilose (BARCELOS, 2012).



Figura 2.11 - Diferentes cores de grãos de sorgo

Fonte: <http://www.flickr.com/photos/51845610@N02/galleries/72157625368510317>

O sorgo forrageiro é um tipo de sorgo de porte alto, com altura de planta superior a dois metros, com muitas folhas e elevada produção de forragem. Também pode ser chamado de silageiro pelo fato da sua aptidão ser principalmente para silagem. O seu uso na alimentação animal é justificado por apresentar características bromatológicas semelhantes às do milho, chegando a apresentar teores mais elevados de proteína bruta em algumas variedades (WHITE, BOLSEN e POSLER, 1991), sendo menos eficiente apenas na oferta de energia para os animais (MELO, 2006). Segundo Lusk et al. (1984), a identificação de características agronômicas relacionadas ao processo de fermentação adequado, que proporcione baixa perda de matéria seca e nutriente durante a ensilagem e altas taxas de digestibilidade e consumo, é de grande importância na seleção de cultivares mais apropriado para a ensilagem.

Restle et al. (1998) relataram que a cultura do sorgo forrageiro tem se promovido devido a sua boa produtividade em situações adversas, ainda que sob carência hídrica e baixa fertilidade do solo, além de mostrar maior tolerância a pragas e moléstias. Há cultivares de sorgo forrageiro adequadas para produção de silagem e para corte verde, que se distinguem por possuírem colmos doces e suculentos, boa produção de grãos e altura entre 2 e 3 m.

Já o sorgo vassoura (Figura 2.10), é um tipo de sorgo que apresenta como característica principal sua panícula (parte mais utilizada da planta) da qual se gera a palha utilizada na confecção da vassoura de sorgo, mais conhecida, como "vassoura caipira".

O sorgo-vassoura, no Brasil foi inserido pelos europeus e se difundiu pelo país. Na década de 30, existiam dezessete oficinas de vassoura de sorgo no estado de São Paulo e parte da palha usada era importada da Argentina, Itália e Uruguai. Essa indústria floresceu até o aparecimento da fibra sintética, quando as vassouras de plástico foram aceitas no mercado e as fábricas de vassouras de sorgo foram desaparecendo. Possui importância regionalizada, principalmente no Sul do Brasil e no interior de São Paulo em que é usada na fabricação de vassouras e também como produto artesanal (FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 2009).



Figura 2.10 - Sorgo vassoura

(Fonte: <http://www.flickr.com/photos/51845610@N02/galleries/72157625368510317>)

2.3.3 Sorgo sacarino

Em virtude da elevada demanda atual por etanol, o cultivo de sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) surge como importante alternativa para a geração de

biomassa para a produção de etanol (ZHÃO e DOLAT, 2009; ZEGADA-LIZARAZU e MONTI, 2012; HAN et al., 2011; RATNAVATHI et al., 2011; ZHANG et al, 2010; VASILAKOGLOU et AL., 2011; PRASAD et al., 2007), principalmente na entressafra da cana-de-açúcar.

Ao lado da cana-de-açúcar, que é tradicionalmente empregada na produção de etanol, o sorgo sacarino apresenta-se como uma ótima opção sob o ponto de vista agronômico e industrial, pois considerando a sua produção de energia o sorgo sacarino se assemelha à cana-de-açúcar, uma vez que armazena açúcares (sacarose, glicose, frutose) fermentescíveis em seus colmos (Figura 2.12) com °Brix podendo variar de 14 a 22% (ALMODARES e SEPAHI, 1996). Estas características possibilitam a produção de etanol, e gera após a extração de um bagaço que pode ser usado na geração de energia térmica ou elétrica (utilizado na produção industrial) ou na produção de etanol de celulose, (MAMMA et al., 1995; TEIXEIRA, JARDINE e BEISMAN, 1997; ALMODARES e HADI, 2009, SIPOS et al., 2009).



Figura 2.12 - Colmos do sorgo sacarino (GARCIA, 2012)

O sorgo sacarino pode oferecer, dentre outras, as seguintes vantagens quando comparado a outras culturas como: rapidez no ciclo (variando de 90 a 120 dias), cultura totalmente mecanizável (plantio por sementes com 5 a 7 kg/ha), colmos suculentos com açúcares diretamente fermentáveis (produção de 40 a 60 ton/ha de etanol), utilização do bagaço como fonte de energia para industrialização, cogeração de eletricidade e produção de etanol de segunda geração ou forragem para animais, contribuindo para um balanço energético favorável, sendo uma cultura tolerante à seca e à baixa fertilidade (SMITH e BUXTON, 1993; BISWAS e RATNAVATHI, 1997; DOLCIOTTI et al., 1998;

BALA,RATNAVATHI et al., 2010; ARIYAJAROENWONG et al., 2012; GUIGOU, 2012;). Na Figura 2.13 pode-se visualizar a cultura do sorgo sacarino.



Figura 2.13 - Sorgo Sacarino (O autor)

O sorgo sacarino também possui alta eficiência no uso de água (1/3 da cana-de-açúcar e 1/2 do milho) e excelente capacidade de desenvolvimento em clima temperado , subtropical, climas tropicais e em solos argilosos e arenosos(CAVAZZA, VENTURI e ANADUCCI, 1983; TEIXEIRA,JARDINE e BEISMAN, 1997; ALMODARES e HADI, 2009). A Tabela 2.3 apresenta a produtividade e o rendimento em etanol do sorgo sacarino e de outras culturas.

Durante os períodos de seca, o sorgo sacarino pode entrar em dormência, e retomar o seu crescimento quando os níveis de umidade suficientes retornarem (GNANSOUNOU, DAURIAT e WYMAN, 2005). Os níveis de nutrientes necessários pelo sorgo sacarino são baixos, embora os níveis de precipitação afetem a produção total de biomassa. Destaca-se também por apresentar maior tolerância ao alumínio tóxico no solo e à salinidade, possibilitando seu cultivo em áreas consideradas marginais (AMADUCCI, MONTI e VENTURI, 2004), além de se desenvolver bem em solos argilosos e arenosos, tolerar uma ampla faixa de pH(5,0 a 8,5) e condições de drenagem do solo (CURT, FERNANDEZ e MARTINEZ, 1998). A Tabela 2.3 apresenta o rendimento de biomassa e etanol para diferentes culturas.

Tabela 2.3 - Rendimento em biomassa e etanol de diferentes culturas (BARCELOS, 2012)

	Biomassa (ton/ha)	Etanol (L/ton)	Etanol (L/ha)
Cana-de-açúcar (colmos)	77	80	6.200
Cana-de-açúcar (bagaço)	25	254 - 272	6.300 – 6.800
Sorgo (grão)	2,5 – 5,0	450 - 480	775 – 1.850
Sorgo (caldo)	35 – 75	76 - 80	4.070 – 7.620
Sorgo (bagaço)	30	304 – 430	9.120 – 12.900
Milho (grão)	4,4	388	3.460 – 4020
Milho (palha)	-	-	1.050 – 1400
Mandioca	-	-	3.310
Beterraba sacarina	50 – 70	94 - 102	5.010 – 6.680
Trigo	7	376	2.590
cevada	-	325 – 358	-

Outra característica que merece destaque é o fato de poder ser cultivado em rotação de culturas com culturas alimentares como o milho ou soja, por exemplo, podendo ser cultivado com sucesso utilizando os mesmos implementos agrícolas. Seu sistema de plantio por sementes é prático, com uma densidade de plantio que pode variar de 12 a 20 plantas/m² (VENENDAAL, JORGENSEN e FOSTERS, 1997). Uma tonelada de milho produz 387 litros de etanol, enquanto a mesma quantidade de sorgo produz 372 litros (SMITH e BUXTON, 1993; COCCO, 2007; de VRIES et al., 2010). Na Tabela 2.4 pode-se verificar algumas variáveis do sorgo sacarino de forma comparativa com outras culturas que são utilizadas para produção de etanol.

De forma comparativa, análises do caldo, colmo e bagaço de sorgo sacarino e cana-de-açúcar são apresentados na Tabela 2.5. Esta tabela aponta resultados de qualidade tecnológica significativa para fins industriais, em que o melhoramento genético associado à escolha de cultivares (variedades ou híbridos) comerciais e a prática de manejo da cultura do sorgo sacarino asseguram boa performance agronômica e produtiva para o sorgo sacarino. vale ressaltar que a produção de etanol por fermentação de soluções de açúcares obtidas a partir do sorgo sacarino varia amplamente entre as cultivares, locais, fertilidade, umidade, datas de plantio/colheita, e apresenta uma associação linear entre o número de dias quentes (ALMODARES et al., 1994).

Tabela 2.4 - Comparação entre cana-de-açúcar, beterraba e do sorgo sacarino
(ALMODARESet al., 1994; REDDY et al., 2008; ALMODARES e HADI, 2009;
WORTMANN et al., 2010;)

	Beterraba	Cana-de-açúcar	Sorgo sacarino
Ciclo da cultura (meses)	7 - 8	9 - 18	3 - 4
Safras por ano	1	1	2 a 3
Exigência do Solo	Solos de Drenagem	Solos Arenosos / tolera alcalinidade	Todos os tipos de solo drenado.
Demandas de Água (m³/ha)	36000	18000	12000
Manejo da Cultura	Requer boa Gestão	Maior exigência de fertilizantes; Requer uma gestão moderada	Exigência de fertilizantes, menor quantidade de pragas e doença complexa; Fácil gerenciamento.
Produtividade colmos (t/ha)	70-90	75 - 90	35 - 70
Teor de açúcar	10-12%	15-18%	7-12%
Produção de Etanol utilizando o caldo(L/ha)	3000 - 5000	5000 - 6000	3000
Tipo de colheita	Mecanizada	Mecanizada/Manual	Mecanizada/Manual

A cana-de-açúcar e beterraba sacarina podem produzir mais açúcar e biomassa do que o sorgo sacarino em condições ideais. No entanto, sorgo sacarino tem um bom desempenho em condições adversas, e requer menos tratos culturais para atingir a sua produção máxima. A produção de açúcar utilizando sorgo sacarino foi comparada com a produção de açúcar utilizando cana-de-açúcar e beterraba sacarina por Blas et al. (2000) e os resultados mostraram que a produção de açúcar de sorgo sacarino é mais viável economicamente nas condições avaliadas.

Ao se comparar o caldo e o bagaço do sorgo sacarino com o da cana-de-açúcar encontra-se várias semelhanças, como por exemplo, na eficiência energética do bagaço de ambas matérias-primas. A eficiência energética do bagaço para a cogeração é de 2.150 kcal/kg para o bagaço de cana É 2.200 kcal/kg para o bagaço de sorgo. Além disso, o sorgo

sacarino é uma cultura neutra em emissão de gases (CO_2 neutral), pois são emitidos 1,5 toneladas de CO_2/ha durante o ciclo vegetativo, 8,5 toneladas de CO_2/ha para conversão e 35 toneladas de CO_2/ha para combustão, mas são absorvidos 45 toneladas de CO_2/ha durante o ciclo vegetativo.

Tabela 2.5 - Análise do caldo, colmo e bagaço do sorgo sacarino e da cana-de-açúcar(EMBRAPA, 2012)

Análise de caldo	Sorgo Sacarino	Cana-de-açúcar
Brix	15,0 – 21,0	18,0 – 21,0
Sacarose(%)	8,0 – 17,5	15,0 – 18,0
ART(%)	13,0 – 20,0	16,0 – 19,0
Pureza(%)	55 – 80	80 – 90
Relação sacarose/ Redutores	1,0 – 8,5	15,0 – 18,0
Análise do Colmo	Sorgo Sacarino	Cana-de-açúcar
Sacarose(%)	4,0 – 13,0	12,0 – 16,0
ART(%)	11,5 – 16,5	13,0 – 17,0
Fibra(%)	10,0 – 19,0	9,0 – 13,0
Composição do Bagaço	Sorgo Sacarino	Cana-de-açúcar
Lignina(%)	11,90	20,50
Pentosanas(%)	26,90	26,35
Celulose(%)	46,57	47,70

Adicionalmente, o bagaço do sorgo sacarino apresenta melhor qualidade biológica para o uso na alimentação animal quando comparado ao bagaço da cana-de-açúcar (BARCELOS, 2012). A Tabela 2.6 apresenta algumas vantagens comparativas entre as culturas de sorgo sacarino e cana-de-açúcar para a produção de etanol.

O sorgo sacarino, como fonte de açúcares, também tem se mostrado ser uma matéria-prima adequada para vários processos de fermentação, como pode-se visualizar na Tabela 2.7. As aplicações potenciais de componentes presentes no sorgo sacarino também estão sendo identificados, como por exemplo, compostos alelopáticos, ceras (TAYLOR, SCHOBER e BEAN, 2006; BLUERMEL et al., 2009), e de holocelulose para a produção de papel (BELAYACHI e DELMAS, 1997; WORLEY, CUNDIFF e VAUGHAN, 1992).

Tabela 2.6 -Vantagens comparativas entre as culturas de sorgo sacarino e cana-de-açúcar para a produção de etanol (BARCELOS, 2012)

Parâmetros	Sorgo sacarino	Cana-de-açúcar
Tipo de plantio	Sementes	Vegetativa
Requerimento de matéria-prima	50% água, 60% nitrogênio	Limitada pela água, nitrogênio
Áreas marginais	Cultivo em áreas marginais	Limitada em áreas marginais
Rebrota/flexibilidade	2-3 cortes por ano	12 – 18 meses
Absorção de minerais	Baixo	Alto
Colheita manual/sem queimada	Campos mais limpos	Queimada necessária
Deterioração colheita mecanizada	Não ha problemas	Sim
Custos de cultivo(R\$/ha)	630	1.742
Ciclo de crescimento (meses)	3 a 4,5	9 a 18

Como são vários os fatores que interferem na produtividade do sorgo sacarino, a sua rentabilidade varia muito conforme a região e com as características da cultivar. De acordo com Gomez et al. (2011) existem aproximadamente quatro mil variedades de sorgo sacarino em todo o mundo.

Linton et al. (2011), constataram que em dois municípios no Mississipi, o etanol produzido a partir dos açúcares fermentáveis de sorgo sacarino custaria aproximadamente 22% a mais do que o etanol produzido a partir de milho, um resultado que não pode ser considerado desfavorável, considerando que as áreas estudadas produzem relativamente elevadas produtividades de milho, e que nenhum valor foi atribuído a qualquer grão ou bagaço do sorgo sacarino .

De acordo com Almodares e Hadi (2009) uma tonelada de colmos de sorgo sacarino tem o potencial de produzir 74 L de etanol. Entretanto, de acordo com a Figura 2.14 também é possível se obter etanol com os grãos de sorgo sacarino e desta forma o processo produtivo de etanol se torna mais viável economicamente quando comparados com culturas como o milho ou cana-de-açúcar.

Tabela 2.7 - Produtos gerados utilizando açúcares derivados de sorgo sacarino (WHITFIELD, CHINN e VEAL, 2012)

Produto	Microorganismo	Referência
Etanol	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Wu et al. (2010)
Acetona	<i>Bacillus acetobutylicum</i>	Cheng et al. (2008)
	<i>Bacillus acetobutylicum</i>	
Butanol	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Cheng et al. (2008) e Zhang et al. (2010)
	<i>Chlorella protothecoides</i>	
	<i>Cryptococcus curvatus</i>	
Lipídeos	<i>Mortierella isabellina</i>	Economou et al. (2010)
	<i>Schizochytrium limacinum</i>	
	<i>Lactobacillus delbruckii</i>	
Ácido Lático	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Samuel et al. (1980), Richter e Berthold (1998), Hetényi et al. (2010)
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	
	<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	
Hidrogênio	<i>Clostridia spp.</i>	Antonopoulou et al. (2008), Ntaikou et al. (2010), Panagiotopoulos et al. (2010), and Saraphirom and Reungsang (2010, 2011)
	<i>Ruminococcus albus</i>	
Metanol	<i>Ubiquitous microflora</i>	Jerger et al. (1987) and Klimiuk et al. (2010)

Outra característica importante a ser analisada para a produção de etanol é o Período de Utilização Industrial (PUI) necessário para o planejamento de colheita e o processamento da matéria-prima. O PUI compreende o período em que a cultivar estará apta para colheita no campo, mantendo os padrões mínimos de rendimento estabelecidos, que viabilizem o cultivo. Industrialmente, recomenda-se um PUI mínimo de 30 dias para que uma cultivar proporcione um bom planejamento e processamento da matéria-prima.

As metas estabelecidas pelo programa de melhoramento de sorgo da Embrapa Milho e Sorgo pressupõem que as cultivares tenha uma produtividade mínima de colmos de 60 t/ha uma extração mínima de açúcar total de 100 kg/tde biomassa (considerando a eficiência de extração de 90-95%); um conteúdo mínimo de açúcar total no caldo de 14%; uma produção mínima de álcool de 60 L/tde biomassa; um período de utilização industrial (PUI) mínimo de

30 dias com extração mínima de açúcar total de 80 kg/ton de biomassa (EMBRAPA, 2012).

Na Figura 2.15 pode-se observar de forma detalhada o potencial de produção de etanol que é possível produzir em 1 ha de área cultivada com sorgo sacarino.

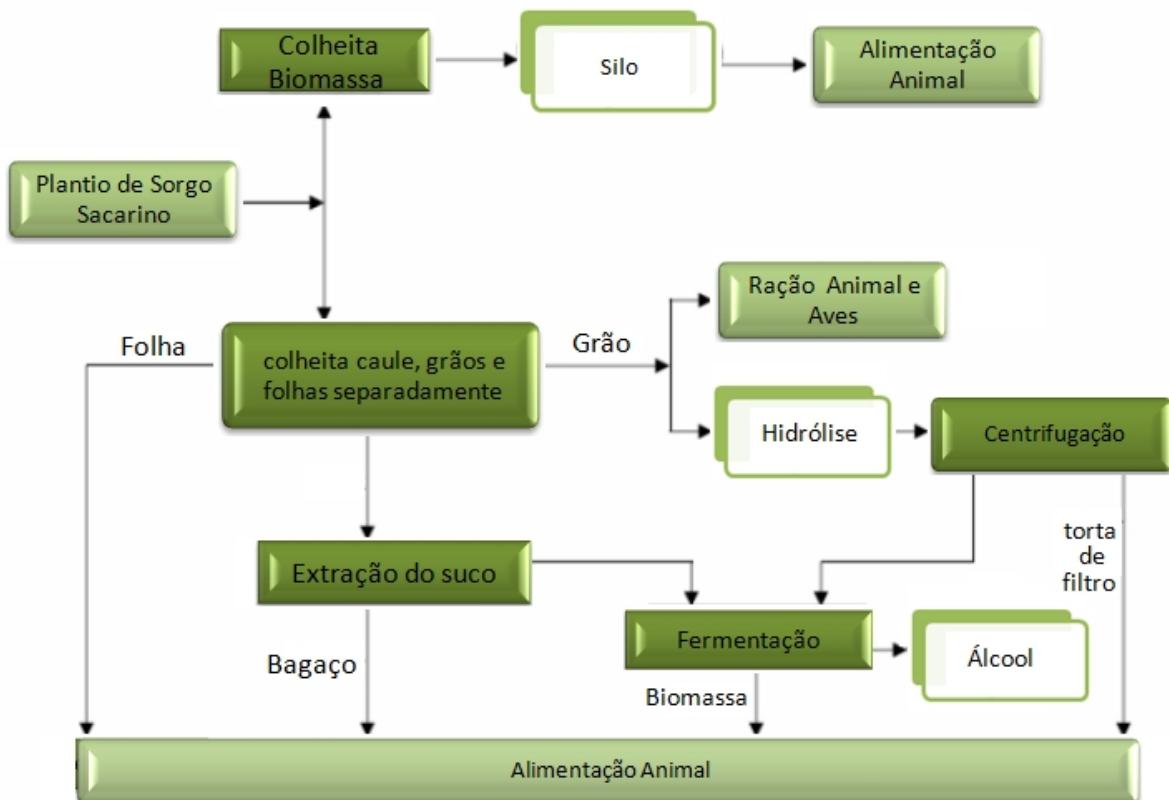


Figura 2.14 - Etapas da produção de etanol e subprodutos gerados utilizando sorgo sacarino
(ALMODARES e HADI, 2009)

O ponto ideal para colheita e o período de utilização industrial são determinados utilizando os valores de °Brix, açúcares redutores totais e percentagem de caldo, na curva de maturação de cada cultivar, ao longo do tempo, a partir do décimo dia após o florescimento até o estágio do grão maduro, e no caso das cultivares, de 30 a 60 dias após o florescimento.

O sorgo sacarino, após atingir o florescimento, inicia o processo de acúmulo de açúcares em uma taxa mais elevada, até alcançar a maturação fisiológica dos grãos. Nessa época, normalmente, ocorre o máximo no conteúdo de açúcares redutores e totais no caldo e na percentagem de caldo extraível. Estes dois parâmetros, entretanto, constituem um método aproximado de determinação do ponto ótimo de colheita, que pode variar de acordo com a cultivar e as condições ambientais (EMBRAPA, 2012).

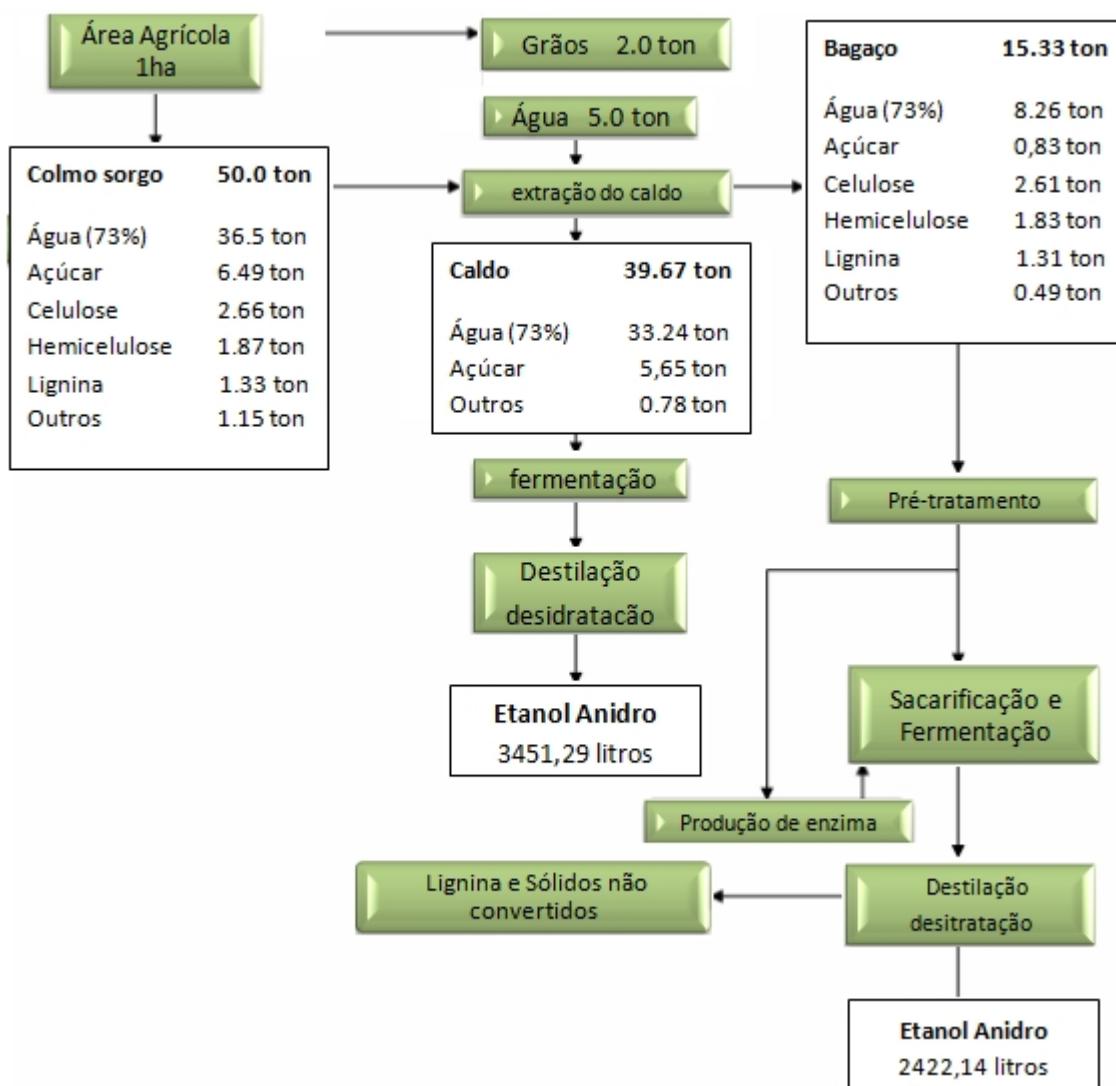


Figura 2.15 - Balanço de massa da produção de etanol utilizando sorgo sacarino.

(ALMODARES e HADI, 2009)

Em relação à época de semeadura, o período adequado de implantação para culturas agrícolas, embora tenha pouco impacto no custo de produção, certamente tem grande influência na produtividade final. Para determinar a tomada de decisão quanto à época de semeadura, é importante conhecer os fatores de riscos, que tendem a ser minimizados, quanto mais eficiente for o planejamento das atividades relacionadas à produção (GARCIA, 2012).

2.3.4 Composição química do caldo do sorgo sacarino

A composição química do caldo do sorgo é fortemente influenciada pelos fatores genéticos e ambientais, sobretudo pelas práticas agronômicas, sendo o conteúdo protéico o mais variável. O caldo do sorgo sacarino de modo geral tem uma composição de açúcares diferente em relação ao da cana-de-açúcar, possuindo relativamente mais glicose e menos sacarose, uma menor POL (porcentagem em massa de sacarose aparente contida em uma solução açucarada de peso normal determinada pelo desvio provocado pela solução no plano de vibração da luz polarizada) e teor de amido até 0,5% (EMBRAPA, 2012).

Desse modo, o material seria menos apto à produção de açúcar cristal e menos propenso à contaminação bacteriana no momento da fermentação. Além disso, uma vez que as panículas do sorgo sacarino são ricas em amido e que a colhedora de cana não é capaz de retirar totalmente a massa de grãos da massa de colmos no momento da colheita, o teor de amido no caldo é mais alto, o que pode alterar as condições de fermentação. Com essas mudanças de composição e parâmetros de processo, deve-se, também, avaliar o etanol produzido quanto aos padrões de qualidade exigidos. Ao se considerar o sorgo sacarino como matéria-prima complementar, a ser utilizada na entressafra da cana, usando a mesma infraestrutura, é absolutamente necessário, além de se avaliar seu potencial na produção de etanol propriamente dito, caracterizar o seu bagaço quanto ao potencial termoquímico (EMBRAPA, 2012). Na Tabela 2.8, é verificado a composição média do caldo de sorgo sacarino da variedade KKU 40 cultivada na Tailândia.

Existem muitas cultivares de sorgo sacarino distribuídas em todo o mundo, proporcionando uma base genética diversificada para o desenvolvimento regional específico altamente produtivo. Apesar destas vantagens, existe uma quantidade de experiências industriais limitadas na produção de etanol a partir do sorgo sacarino (GUIGOU et al., 2011).

Pode-se observar que o sorgo sacarino é hoje a espécie, mais promissora para elevar a quantidade produzida de etanol anualmente no Brasil, de forma rápida e segura, uma vez que não há necessidade de mudanças estruturais e logísticas do parque industrial e operacional das usinas que o receberão.

Os colmos de sorgo podem ser colhidos com a mesma colhedora da cana e a época de colheita ideal ocorre justamente na entressafra de cana, ou seja, quando a produção de etanol por hectare é máxima no sorgo, a cana está muito abaixo do seu potencial máximo de

produção, e toda a energia do sorgo sacarino pode ser transformada com a tecnologia atual (EMBRAPA, 2012)

Tabela 2.8 - Composição média do caldo de sorgo sacarino da variedade KKU 40 cultivada na Tailândia (LAOPAIBOON et al., 2009)

Constituintes	Caldo de sorgo sacarino
pH	4,9
Sólidos S. Totais (^o Brix)	18
Açúcar total (g.L ⁻¹)	173,02
Glucose (g.L ⁻¹)	20,85
Frutose (g.L ⁻¹)	16,80
Sucrose (g.L ⁻¹)	124,05
NH ₄ ⁺ -N (ppm)	21,4
NO ₃ ⁻ -N (ppm)	4,4
Total P (ppm)	20
Total K (ppm)	1790
Total Na (ppm)	170
Total S (ppm)	120
Total Ca (ppm)	166
Total Mg(ppm)	194
Total Fe (ppm)	2
Total Mn(ppm)	3
Total Cu (ppm)	0,3
Total Zn (ppm)	1,4

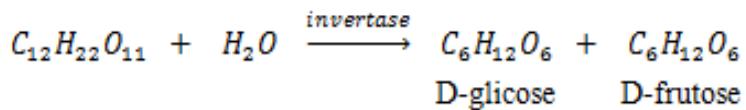
2.4 Fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica é um processo biológico da ação de leveduras sobre açúcares fermentescíveis conduzido normalmente pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. A importância deste processo está diretamente relacionada com diversos setores da agroindústria, com destaque para o sucroalcooleiro (BARCELOS, 2012).

A fermentação da glicose é um processo completamente estabelecido. Não existe microrganismo mais apropriado que a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que pelo de seu

emprego intensivo em fermentação industrial, já passou por um processo de seleção natural, apresentando os melhores desempenhos em conversão de glicose a etanol, produtividade, tolerância alcoólica, resistência e robustez a inibidores, além de não exibir muitas limitações fermentativas presentes nas bactérias. Desde que os impactos negativos dos inibidores sejam controlados, a fermentação acontece sem maiores problemas (MATSUSHIKA et al., 2009)

Como o etanol só é formado pelas leveduras a partir de monossacarídeos, em processos contendo meios ricos em sacarose, faz-se necessária a decomposição deste açúcar em D-glicose e D-frutose. Na fermentação alcoólica, estes microrganismos fornecem a enzima invertase, que hidrolisa a sacarose. A reação da inversão é demonstrada abaixo:

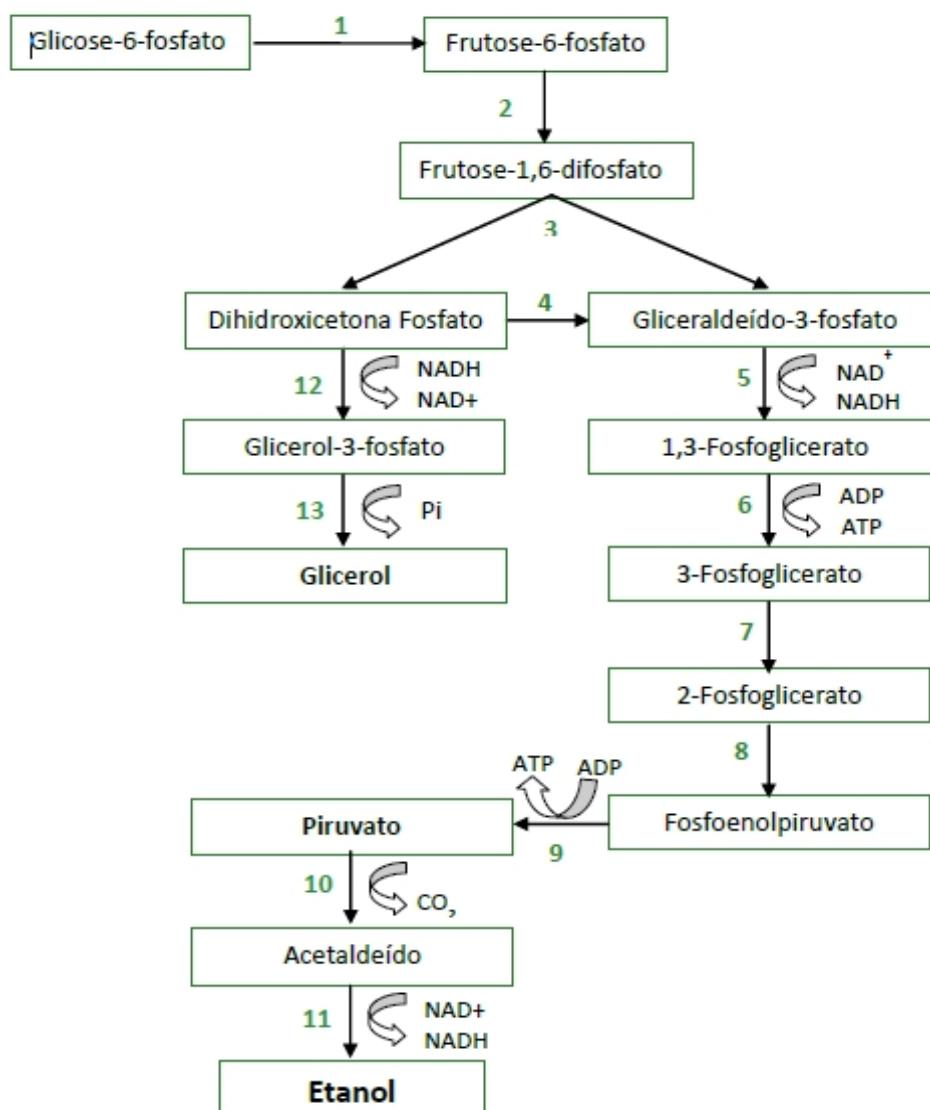


Tratando-se do processo envolvendo *Saccharomyces cerevisiae*, a principal rota metabólica envolvida no processo de produção de etanol é a glicólise, em que uma molécula de glicose é metabolizada produzindo duas moléculas de piruvato. Sob condições anaeróbicas, o piruvato é reduzido a etanol com liberação de CO₂ (Figura 2.16). Dois ATPs produzidos na glicólise são utilizados na síntese de novas células de fermento. Sem o consumo de ATP na reprodução celular, o metabolismo glicolítico seria interrompido por causa do acúmulo de ATPs que inibiria a enzima fosfofrutoquinase, uma das enzimas mais importantes da glicólise (LEITE, 2011).

A célula de levedura possui compartimentos para adequação da atividade metabólica. A fermentação alcoólica (glicólise anaeróbia) ocorre no citoplasma, enquanto que a oxidação total do açúcar (respiração) se dá na mitocôndria. Em condições de parcial anaerobiose (quantidade de oxigênio disponível no meio, no início da fermentação, inferior a 10 mg/L), o metabolismo da *Saccharomyces cerevisiae* é estritamente fermentativo. Os açúcares consumidos pelas leveduras durante a fermentação são exclusivamente a D-glicose e D-frutose (BARCELOS, 2012).

O mecanismo metabólico dos açúcares fosforilados é baseado na sua transformação em piruvato pela via clássica da glicólise, como é mostrada na Figura 2.16. Em anaerobiose, o piruvato está principalmente orientado à produção de etanol para regenerar o cofator NAD⁺ (nicotinamida adenina dinucleotídeo) consumido ao nível de gliceraldeído-3-fosfato. O piruvato é então descarboxilado a acetaldeído pela enzima piruvato descarboxilase, depois este é reduzido a etanol pela enzima álcool desidrogenase.

O etanol representa o produto principal da fermentação alcoólica e pode alcançar concentrações extracelulares de até 12 a 14% de volume em fermentação normal. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* não acumula etanol no interior de seu citoplasma durante a fermentação. O gás carbônico, segundo produto da fermentação alcoólica, tem um rendimento médio de 0,4 a 0,5 gramas de CO₂ por grama de açúcar degradado (MANSURE, SOUZA e SOUZA, 1997).



1-Fosfoglucose Isomerase; **2**-Fosfofrutoquinase; **3**-Aldolase; **4**-Triose Fosfato Isomerase; **5**-Gliceraldeído-3-Fosfato Desidrogenase; **6**-Fosfoglicerato Quinase; **7**-Fosfoglycerase Mutase; **8**-Enolase; **9**-Quinase Pirúvica; **10**-Piruvato Descarboxilase; **11**-Desidrogenase Alcoólica; **12**-Glicerol-3-fosfato Desidrogenase; **13**- α -glicerofosfatase

Figura 2.16 - Via glicosídica, síntese de glicerol e conversão do piruvato a etanol (BERCELOS, 2012)

Durante a fermentação alcoólica são formadas mais de uma dezena de ácidos orgânicos, sendo que sua origem depende principalmente de três vias do metabolismo da levedura. Um determinado número de compostos como acetato, succinato, α -cetoglutarato, malato e citrato derivam diretamente do piruvato pelo funcionamento limitado do ciclo dos ácidos tricarboxílicos. Outros ácidos orgânicos (ácidos isovalérico e isobutírico) derivam das vias de síntese dos aminoácidos e dos álcoois superiores (BARCELOS, 2012).

Na biossíntese de glicerol o NADH é oxidado pela redução da dihidroxacetona-fosfato em glicerol-fosfato, que por sua vez é convertido em glicerol, como representado na Figura 2.16. Durante o processo de fermentação a levedura pode sofrer alguns estresses que comprometam seu desempenho durante o processo de produção de etanol. Deficiência de nutrientes, altas temperaturas, contaminações microbiológicas, pressão osmótica ocasionada pela concentração de sólidos dissolvidos no meio, altos teores de etanol, sulfito, íon sódio, ácidos láctico e acético provenientes de contaminações bacterianas, além de baixos pH são as principais condições potenciais para um ambiente de estresse da levedura durante a fermentação alcoólica. Contornar essas adversidades é o maior desafio nesse tipo de processo. Para se defender destas situações desfavoráveis, a levedura sintetiza moléculas que permitem aumentar o grau de reparo dos danos causados pelo estresse. Entre as moléculas bem caracterizadas estão as “proteínas de estresses”. Estas respostas a nível transcripcional são importantes para a sobrevivência celular e possui várias vias de transdução de sinais (RUIS e SCHÜLLER, 1995).

A contaminação bacteriana é um problema bastante conhecido e estudado por pesquisadores de todo o mundo. Ela é uma das principais responsáveis pela diminuição da viabilidade celular e queda de rendimento em fermentações alcoólicas protagonizadas por *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentações alcoólicas contaminadas propiciam uma competição, entre leveduras e bactérias, por nutrientes que estão presentes naquele meio. Segundo Thomas et al. (2002), a presença significativa de ácido láctico e acético pode ser a causa da diminuição da viabilidade celular das leveduras e queda de rendimento na produção de etanol. Para o autor, a inibição do crescimento da *Saccharomyces cerevisiae* por estes ácidos orgânicos está em função do pH extracelular, da capacidade de proteção proporcionada pelo meio e do total destes ácidos presentes no mesmo.

Em geral, as leveduras são capazes de executar a fermentação alcoólica entre 28 e 35 °C eficientemente. Apesar da taxa inicial de formação de etanol ser maior a temperaturas

elevadas (40°C), a produtividade geral do processo fermentativo diminui devido à inibição pelo produto (BARCELOS, 2012).

O pH ótimo para a produção de etanol por leveduras de *Saccharomyces cerevisiae* situa-se, geralmente, na faixa de 4 a 5. Aumentando-se o pH até 7, observa-se uma diminuição do rendimento em etanol, com aumento da produção de ácido acético. O etanol também apresenta efeito inibitório na taxa de crescimento celular a concentrações acima de 10% p/v. Além do produto (etanol), a levedura também sofre inibição pelo substrato, que ocorre em concentrações maiores que 150 g/L (BARCELOS, 2012).

2.5 - Enzimas

As enzimas são substâncias orgânicas específicas compostas por polímeros de aminoácidos, têm a capacidade de promover e acelerar reações químicas, sem sofrer qualquer alteração geral dos agentes envolvidos. As enzimas são classificadas pelos substratos com que reagem e por sua especificidade de reação. As enzimas se denominam adicionando a terminação "ase" ao nome do substrato com o qual realizam reações (SPIER, 2005). São utilizadas em processos industriais, sendo produzidas atualmente, em escala crescente por meio de processos fermentativos, utilizando-se bactérias e fungos em crescimento sobre meios nutritivos adequados (SCIPIONI, 2011).

Todas as enzimas são proteínas com exceção de um pequeno grupo de moléculas catalíticas de RNA (ribozimas). A utilização das enzimas na indústria é vantajosa, já que são naturais, não tóxicas e específicas para determinadas ações. Além disso, são capazes de alterar as características de variados tipos de resíduos, contribuindo para reduzir a poluição ambiental (FRANÇOSO, 2013)

Para atuar corretamente, as enzimas precisam de condições específicas, pois são ativas apenas em uma faixa estreita de acidez-alcalinidade e são sensíveis a mudanças nesse fator e na temperatura do meio. Os micro-organismos são a principal fonte de enzimas de aplicação industrial, mas diversas podem ser obtidas de animais (pancreatina, tripsina, quimotripsina, pepsina, renina e outras) ou vegetais (papaína, bromelina e outras). Hoje, porém, como é possível modificar geneticamente os micro-organismos para que forneça qualquer enzima, a tendência é substituir as produzidas por vegetais e animais pelas de origem microbiana. Segundo Cabral (2012), as principais características das enzimas são:

- Produtos naturais biológicos;

- Apresentam alto grau de especificidade;
- Reações com enzimas são baratas e seguras;
- Apresentam mecanismo de “turnover”, desempenham a mesma função consecutivamente, sem serem consumidas no processo;
- São altamente eficientes, acelerando a velocidade das reações de 10^8 a 10^{11} vezes;
- São econômicas, reduzindo a energia de ativação necessária à reação;
- Não são tóxicas.

As enzimas apresentam essencialmente três propriedades principais : estabilidade, atividade e especificidade (CABRAL, 2012). A estabilidade é a capacidade de uma enzima depender de sua estrutura nativa, a qual é mantida por meio de forças de interação (pontes de hidrogênio e ligações de sulfeto, forças de Van der Waals, interações apolares e iônicas). Alterações no ambiente reacional podem debilitar essas interações, alterando a estrutura tridimensional nativa e ocasionando perda parcial ou total da sua funcionalidade biológica. Assim a estabilidade pode ser afetada por variação de temperatura, pH e presença de solventes polares.

Já a atividade é uma propriedade de uma enzima atuar na diminuição da energia de ativação requerida para transformar um substrato em produto, aumentando a velocidade de reação. A capacidade catalítica da enzima reside no seu sítio ativo e este compreende um número pequeno de aminoácidos. O sítio ativo é uma estrutura complexa cuja configuração permite alojar a molécula de substrato na posição correta para que os grupos funcionais da enzima efetuem sua transformação química.

A especificidade define a afinidade de uma enzima por grupos específicos em um determinado substrato. Esta é uma propriedade imprescindível das enzimas enquanto catalisadores. Duas características estruturais são determinantes na especificidade da enzima: o substrato possui ligações químicas que podem ser atacadas pelos grupos funcionais do sítio ativo da enzima e o substrato possui grupos funcionais que se unem à enzima, permitindo seu correto alinhamento no sítio ativo para que a reação possa ocorrer.

2.5.1 Hidrólise enzimática do amido

Os grânulos de amido são constituídos por dois polissacarídeos, exclusivamente sendo o componente principal deles o monômero glicose. Normalmente, os

dois componentes ocorrem juntos no amido, mas pode haver amidos que contenham apenas amilose ou amilopectina.

A amilose é um polímero essencialmente linear da glicose, na qual as unidades piranosídicas constituem a molécula linear contendo, cerca de 99% ligações α (1-4) e o restante de α (1-6) representando 20 a 26% da molécula do amido. Amilose é uma molécula relativamente longa, difere em tamanho e estrutura dependendo da origem sendo formada por 2000 a 5000 unidades glicose (Figura 2.17) (BERTOFT e BLENNOW, 2009).

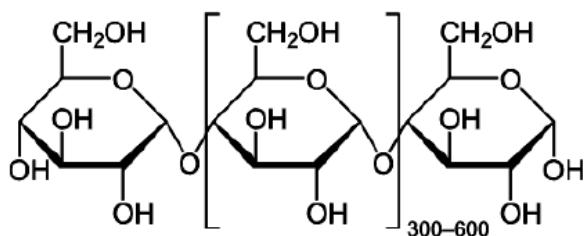


Figura 2.17 - Estrutura da amilose (SCIPIONI, 2011)

Amilopectina é um polímero altamente ramificado, insolúvel em água, constituído por cadeias de amilose ligados a pontos de ramificação (FIGURA 2.18), no qual as unidades de glicose estão ligadas em sua grande maioria por ligações α (1-6) o que confere à estrutura uma ramificação (BOBBIO e BOBBIO 2001). Segundo os mesmos autores o principal componente do amido é a amilopectina com 73-86% e o menor é a amilose com 14-27%. A relação entre os dois polissacarídeos varia de acordo com a origem botânica do amido e suas respectivas quantidades dependem da fonte de amido (REGULY, 1996).

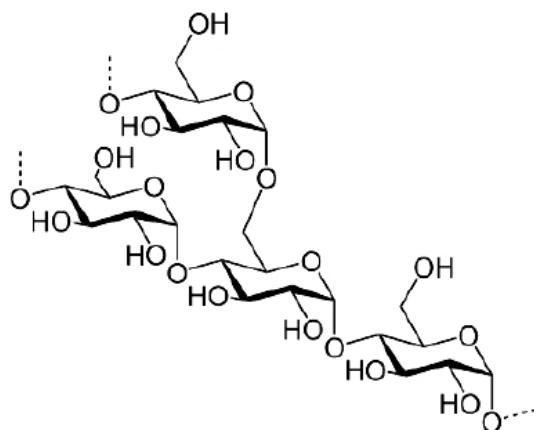


Figura 2.18 - Estrutura da amilopectina (SCIPIONI, 2011)

Para hidrolisar os polímeros de amido, geralmente são utilizadas as enzimas amilolíticas, pois como as enzimas são denominadas de acordo com o substrato sobre o qual atuam, o termo amilase indica a ação sobre o amido. Estas enzimas apresentam grande importância em biotecnologia com aplicações desde alimentos, fermentação, têxtil e indústrias de papel. Apesar das amilases poderem ser derivadas de diversas fontes, incluindo plantas, animais e microrganismos, enzimas microbianas geralmente encontram grande demanda industrial. Atualmente grandes quantidades de amilases microbianas estão disponíveis comercialmente e têm aplicação quase completa na hidrólise do amido em indústrias de processamento do amido. As amilases podem ser divididas em três grupos: as α -amilases, as quais rompem as ligações no interior do substrato (endoamilases); as β -amilases, que hidrolisam unidades das extremidades não redutoras do substrato (exoamilases); e as glucoamilases (amiloglucosidases), as quais liberam unidades de glicose do terminal não-redutor das moléculas do substrato (SCIPIONI, 2011).

Hidrólise do amido é a clivagem do polímero de amido para fragmentos de cadeia curta, como dextrina e maltose, ou monômeros de glicose. A hidrólise do amido é essencial em muitos aspectos para uso do amido. Os produtos da hidrólise do amido são múltiplos e incluem produtos como dextrinas e açúcares simples. As fontes amiláceas requerem a reação do amido com a água (hidrólise) quebrando o mesmo em açúcares fermentáveis (sacarificação). Normalmente, o amido é misturado com água, que é então agitada e aquecida para ruptura dos grânulos. Enzimas específicas que fazem a cisão nas ligações químicas são adicionadas em vários momentos durante o ciclo de aquecimento. A hidrólise é decorrida do intumescimento da macromolécula (amido) e sua solvatação, catalisada por agentes químicos (ácidos, bases e alguns sais) ou biológicos (enzimas) que favorecem a reação (SCIPIONI, 2011).

O uso destas enzimas na indústria sucroalcooleira vem de encontro aos anseios de um setor que busca modernização e desenvolvimento de melhorias de processos que agreguem valor ao produto final, satisfaçam a demanda dos mercados nacional e internacional e promovam diferenciação, em um mercado cada vez mais competitivo. Nas usinas, as enzimas são basicamente utilizadas para solucionar os problemas causados pela presença de amidos e dextranas (OLIVEIRA, 2007).

Neste setor, as enzimas, amilase e dextranase, são utilizadas respectivamente, para a remoção do amido e da dextrana no caldo de cana-de-açúcar. Elas hidrolisam estes polímeros em compostos de menor peso molecular e eliminam seus impactos negativos no processo e no produto final, reduzindo a viscosidade e aumentando o rendimento e a qualidade do açúcar.

produzido (FRANÇOSO, 2013). De acordo com Anyangwa et al. (1993), a remoção do amido no processamento de cana-de-açúcar aumenta a capacidade, o volume e a qualidade de produção. Após a hidrólise enzimática do amido, dá-se início ao resfriamento e então a levedura e outros nutrientes são adicionados para o início do processo fermentativo.

López et al. (2005), relata que α -amilase, tem sido utilizadas como catalisadores para a hidrólise enzimática de materiais com elevado teor de amido, pois esta enzima quebra as ligações α (1,4) dos polissacarídeos que possuem três ou mais unidades de D-glucose em união α (1,4). O ataque ocorre na forma não seletiva (tipo endoenzima) sobre vários pontos da cadeia simultaneamente, sendo que os primeiros produtos da hidrólise são sempre oligossacarídeos de 5 a 7 unidades de glicose. Isso representa um ataque preferencialmente sobre cada passo da hélice, da cadeia espiral da amilose ou da amilopectina. A α -amilase atua isolada ou simultaneamente, com outras enzimas amilolíticas, apresentando importantes aplicações como na indústria de alimentos, bebidas e na obtenção de produtos têxteis e farmacêuticos (SPIER, 2005). É uma enzima liquidificante porque reduz drasticamente a viscosidade da solução de amido (BAYSAL et al., 2008).

A amiloglucosidase, ou glucoamilase, ou glicoamilase, (1,4) (1,6) α -D-glucan glucanohidrolase, é uma enzima extracelular que rompe as ligações α -1,4 e α -1,6 do amido a partir da extremidade não redutora até glicose (LIU, 2002). Além das frações amilose e amilopectina do amido, outras moléculas como maltose, dextrinas e glicogênio são hidrolisados pela enzima, que atua também sobre as ligações α -1,3. A amiloglucosidase é uma enzima de indução, sendo importante a presença de maltose ou amido no meio para sua alta produção. Assim, a amiloglucosidase é usada em amidos liquefeitos com α -amilase para chegar a produtos que serão usados como substratos para fermentações, ou para a obtenção biotecnológica de glicose e dextrinas (SPIER, 2005).

A maior parte das α -amilases utilizadas pela indústria de açúcar nos Estados Unidos para controlar o teor de amido no caldo de cana-de-açúcar possuem temperatura de estabilidade intermediária (acima de 85°C, temperatura ótima próxima a 70°C), e são produzidas por *Bacillus subtilis* (FRANÇOSO, 2013).

Nos Estados Unidos e em muitos outros países, as α -amilases são geralmente aplicadas no caldo nos últimos evaporadores, em que o amido está gelatinizado e dissolvido sob condições de temperatura entre 60 e 65°C. A α -amilase bacteriana termoestável Termamyl, utilizada em algumas unidades industriais do Brasil é obtida de *Bacillus licheniformis* e apresenta atividade ótima em pH de 6,0 e 7,0 e temperatura de 90°C (FRANÇOSO, 2013).

As principais enzimas envolvidas na hidrólise do amido e as respectivas características estão apresentadas na Tabela 2.8.

Tabela 2.9 - Característica das enzimas envolvidas na hidrólise do amido (BARCELOS, 2012)

Tipo	Nome comum	Micro-organismos produtores	Substrato	Ótimo	
				pH	T (°C)
Endo-amilase	Amilase bacteriana (E.C 3.2.1.1)	<i>B. subtilis</i>	α-1,4-glicosil	6.0	65-70
		<i>B. licheniformis</i>	α-1,4-glicosil	5.0-7.0	90
		<i>A. oryzae</i>	α-1,4-glicosil	4.5	50-60
Exo-amilase	Amilase fúngica (E.C 3.2.1.1)	<i>A. Niger</i>	α-1,4-glicosil α-1,6-glicosil	4.0-5.0	60
	Amiloglucosidase (E.C 3.2.1.3)				
	α-amilase bacteriana (E.C 3.2.1.1)	<i>Bacillus sp</i>	α-1,4-glicosil	5.0	55-60
		<i>Clostridium sp.</i>	α-1,4-glicosil	5.5-6.0	75-85
α-1,6-amilase	Pululanase (E.C 3.2.1.41)	<i>K. aerogenes</i>	α-1,6-Maltotriosil	5.0	60
	Isoamilase (E.C 3.2.1.68)	<i>Pseudomonas sp.</i>	α-1,6-Heptasac	4.0	50-55
Isomerase	Glicose isomerase (E.C 5.3.1.5)	<i>A. circulans</i>	Aldo/ceto pentose Aldo/ceto hexose	8.2	65

2.6 Tratamento estatístico

2.6.1 Anova

A análise de variância (Anova) é um teste estatístico amplamente difundido entre os analistas, e visa fundamentalmente verificar se existe uma diferença significativa entre médias oriundas de grupos diferentes, também chamados de tratamentos. Para montagem do quadro de Anova, Tabela 2.9, seguem as equações 2.1, 2.2, 2.3 e 2.4, respectivamente.

$$\text{Soma dos quadrados total} = SQT_0 = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^b (y_{ij} - \bar{y})^2 \quad (2.1)$$

$$\text{Soma dos quadrados dos blocos (i)} = SQT = b \sum_{i=1}^t (\bar{y}_{i\cdot} - \bar{y})^2 \quad (2.2)$$

$$\text{Soma dos quadrados dos tratamentos (j)} = SQB = t \sum_{j=1}^b (\bar{y}_j - \bar{y})^2 \quad (2.3)$$

$$\text{Soma dos quadrados do resíduo ou do erro} = SQR = SQT_0 - SQT - SQB \quad (2.4)$$

Em que:

\bar{y}_j = Média de bloco;

$\bar{y}_{i\cdot}$ = Média de tratamento;

y_{ij} = Experimento (observação de um ponto);

\bar{y} = Média geral;

b = Número de blocos;

t = Número de tratamentos.

Os resultados de F_t serão comparados com valores tabelados da distribuição F para 5% ou 1% de significância. Para $F_t > F$ tabelado conclui-se que existe diferença entre tratamentos, caso contrário os tratamentos serão estatisticamente iguais.

Tabela 2.9 - Quadro de análise de variância

Causas de variação	GL	SQ	QM	F_t
Tratamentos	$(t - 1)$	SQT	$QMT = SQT/(t - 1)$	QMT/QMR
Blocos	$(b - 1)$	SQB	-	
Resíduo	$(t - 1)(b - 1)$	SQR	$QMR = SQR/(t - 1)(b - 1)$	
Total	$tb - 1$	SQT_0		

GL - graus de liberdade; SQ - soma dos quadrados; QM - soma dos quadrados médios; F_t - Razão.

Quando é feita a análise de variância (Anova) de um experimento com apenas dois tratamentos, pode-se visualizar apenas pela média qual o melhor tratamento. Porém, quando

ha mais de dois tratamentos, fazendo apenas o teste de “F” (teste que mostra se existe diferença entre as médias dos tratamentos) não pode-se indicar qual o melhor tratamento caso exista diferença entre eles ao nível de significância estipulado. Neste caso, é necessário aplicar testes de comparação entre médias de tratamentos (ALVES, 2012).

2.6.2 Teste de Scott - Knott

Existem diversos métodos de comparação entre médias que possuem a finalidade de classificá-las. Como exemplo, pode-se citar os métodos de Scheffé, Tukey, Dunnett, Duncan e Scott-Knott. Os procedimentos de comparações múltiplas, como o teste de Tukey, são apresentados detalhadamente e com grande diversidade nos diversos textos de estatística experimental, o que facilita suas utilizações pelos pesquisadores de diferentes áreas, tendo em vista, em grande parte, as suas disponibilidades na maioria dos *softwares* estatísticos. Entretanto, muitas vezes o usuário tem dificuldade na interpretação dos resultados, principalmente se o número de tratamentos for grande e também existir ambiguidade entre os tratamentos.

Com o objetivo de eliminar a ambigüidade e garantir uma separação real de grupos de médias, foram propostos na literatura métodos aglomerativos, e dentre eles destaca-se o apresentado por Scott - Knott (1974). O teste de Scott - Knott foi comparado por Silva (2010) com o teste de Tukey, t, Scheffé, Newman Keuls modificado e tbayesiano, com relação à precisão, número de tratamentos, número de repetições e nível de significância, por meio do estudo de simulação, sendo avaliado quanto ao poder e taxas de erro do tipo I (rejeitar a hipótese de nulidade quando a mesma é verdadeira, também chamado de falso positivo). De acordo com os resultados obtidos, o aumento do número de tratamentos do experimento afetou o desempenho dos testes, destacando-se o teste de Scott - Knott, por ser o mais poderoso e por controlar adequadamente as taxas de erro do tipo I, apesar de a taxa de erro por experimento aparentemente apresentar valores um pouco acima do nível de significância nominal do teste.

Verifica-se que o teste de Scott - Knott por apresentar uma real separação dos grupos de média (eliminando ambiguidade), o que sem dúvida facilita a comparação entre os níveis dos tratamentos, auxilia o pesquisador na discussão de seus resultados e na tomada de decisões.

A principal desvantagem é que esse método possui cálculos mais complexos do que os outros métodos. Mas com os computadores houve mais agilidade no processo de análise,

deste modo, o método de Scott-Knott tornou-se uma alternativa viável aos pesquisadores que na maioria das vezes preferem resultados mais diretos e mais fáceis de serem interpretados.

Para aplicação do método ordenam-se as médias dos tratamentos em ordem crescente realizando em seguida testes estatísticos para encontrar conjuntos ou grupos de médias de tratamentos, por meio das Equações 2.5 e 2.6 sugeridas pelos desenvolvedores do método (SCOTT e KNOTT, 1974):

$$\lambda = \frac{\pi B_0}{2\sigma_0^2(\pi - 2)} \quad (2.5)$$

Sendo:

B_0 = valor máximo da soma dos quadrados entre os grupos de todas as possíveis partições dos tratamentos e:

$$\sigma_0^2 = \frac{\sum_i^t (y_i - \bar{y})^2 + V s_x^2}{(t + V)} \quad (2.6)$$

Sendo:

y_i = média do i-ésimo tratamento;

t = número de médias de tratamentos sendo separados;

s_x^2 = variância de uma média de tratamento (quadrado médio do erro/r);

V = graus de liberdade do quadrado médio do erro;

r = número de observações em cada média.

Calcula-se B_0 para todas as possíveis partições entre as médias. Considera-se, dentre todas as possíveis partições, aquela que apresentar o maior valor de B_0 , obtendo-se dois grupos distintos de médias. Calcula-se para essa partição o valor de lâmbda (λ) em seguida é feita uma comparação do valor deste com o valor tabelado de qui-quadrado (X^2).

Se λ for menor que o valor de X^2 , as médias dos dois grupos são consideradas homogêneas e nenhum teste é mais necessário. Ao contrário, se λ for maior que o valor de X^2 os grupos de médias são considerados diferentes. Neste caso, repetem-se todos os cálculos para cada um desses dois grupos de médias até que se encontrem grupos em que as médias possam ser consideradas homogêneas (ALVES, 2012).

Todas as ramificações dos grupos de médias que vão se formando, têm que ser analisadas. A Figura 2.20 demonstra um experimento hipotético com 8 médias colocadas em ordem crescente (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). Após os cálculos iniciais, as fórmulas acusaram uma diferença entre o grupo das cinco primeiras médias (1, 2, 3, 4, 5) com o grupo das três últimas (6, 7, 8). Inicialmente o algoritmo separa as médias em dois grupos e prossegue as análises

dentro de cada grupo, lembrando que as médias num mesmo grupo são consideradas homogêneas. Executando os cálculos para o grupo com as médias 1, 2, 3, 4, 5 o resultado indicou que havia diferença entre o grupo das médias 1, 2, 3 com o grupo com as médias 4, 5. Prosseguiram-se os cálculos dentro do grupo 1, 2, 3 e obteve uma diferença entre os grupos das médias 1, 2 com o grupo da média 3. Após os testes, o grupo das médias 1 e 2 foi considerado homogêneo e encerrou-se o particionamento nesta ramificação.

Todas as outras ramificações restantes foram analisadas até que não houvesse diferenças entre as médias ou que restasse apenas uma média no grupo. O passo seguinte foi o teste do grupo que continha a média 3. Verificado que esta média era única no grupo, passou-se para o grupo que continha as médias 4 e 5 e assim sucessivamente para os outros grupos.

Na Figura 2.19 estão representados todos os caminhos que foram percorridos para que o algoritmo fizesse a classificação das médias em 5 grupos. Os grupos estão representados por meio de letras, uma para cada grupo de média.

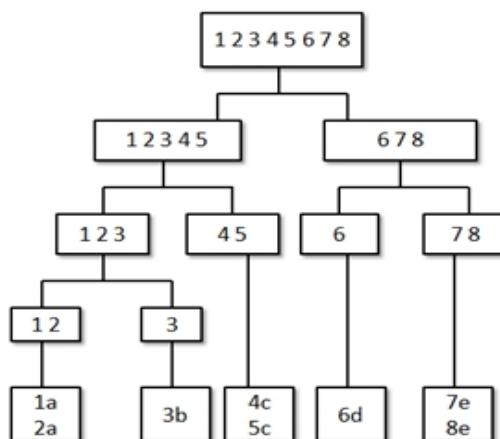


Figura 2.19 - Algoritmo para classificação pelo método de Scott-Knott (ALVES, 2012)

CAPÍTULO 3

MATÉRIAL E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentados os materiais utilizados para o desenvolvimento desta pesquisa, assim como as metodologias aplicadas nos experimentos realizados. A primeira etapa deste trabalho teve início com o plantio de 4 cultivares de sorgo sacarino para obtenção do caldo e determinação de seus parâmetros de produtividades em diferentes condições climáticas. Numa segunda etapa foi feita a caracterização química do caldo do sorgo sacarino e avaliação de sua fermentabilidade em diversas situações. As etapas do trabalho estão ilustradas na Figura 3.1.

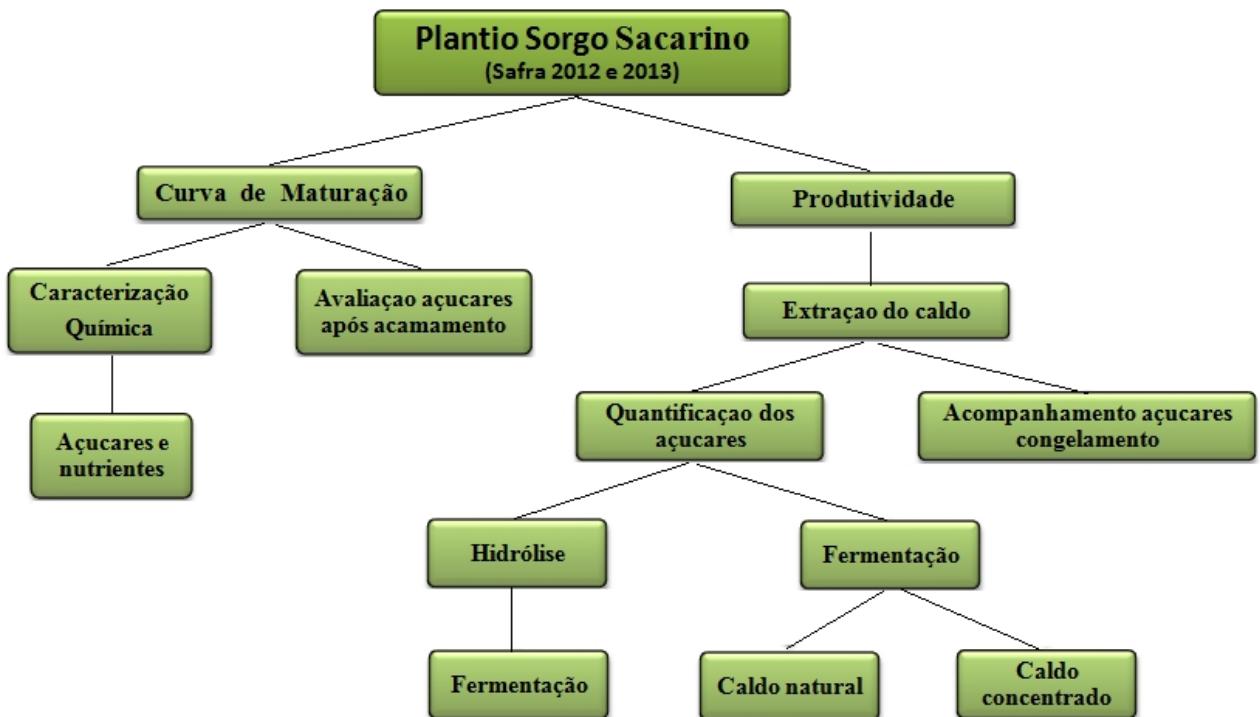


Figura 3.1 - Fluxograma das etapas de realização do trabalho

3.1 Sorgo Sacarino

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizadas as cultivares de sorgo sacarino denominadas BRS 506, BRS 508, BRS 509 e BRS 511, a partir de sementes fornecidas pelo Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, da Embrapa Milho e Sorgo, situada em Sete Lagoas - Brasil.

As cultivares foram semeadas em solo classificado como Latossolo Vermelho distrófico, textura arenosa, em uma área de propriedade do Instituto Federal do Triângulo Mineiro, na cidade de Ituiutaba, Minas Gerais. A área utilizada no experimento pode ser visualizada na Figura 3.2.



Figura 3.2 - Área experimental das parcelas utilizada para o plantio das cultivares de sorgo sacarino

Dois experimentos foram conduzidos neste trabalho com diferentes épocas de semeadura com o objetivo de avaliar a influência da época de plantio na produtividade de colmos e açúcares. A primeira semeadura foi em período de Janeiro e em Abril de 2012 a colheita final. A segunda semeadura ocorreu em Novembro de 2012 e em Março de 2013 foi a colheita final. Ambos experimentos foram realizados sem irrigação.

Foram cultivadas em cada plantio duas áreas distintas: uma área para determinação da produtividade de colmos das cultivares e uma outra área para determinação da curva de maturação. Esta divisão das áreas foram realizadas com objetivo de facilitar os experimentos e colheita das amostras. O plantio para a determinação da produtividade, foi realizado por meio de um delineamento experimental, blocos casualizado, com quatro repetições para cada cultivar e com parcelas constituídas por quatro linhas de cinco metros de comprimento. Nestas parcelas foram consideradas como área útil, as duas linhas centrais eliminando-se as linhas da extremidade de cada parcela. O espaçamento entre cada linha foi de 0,70 m e conservou-se após desbaste 10 plantas por metro linear de sulco para cada cultivar, como pode ser

visualizado na Figura 3.3 e 3.4. O preparo do solo foi realizado de forma convencional, sendo realizada uma aração e duas gradagens na área experimental.

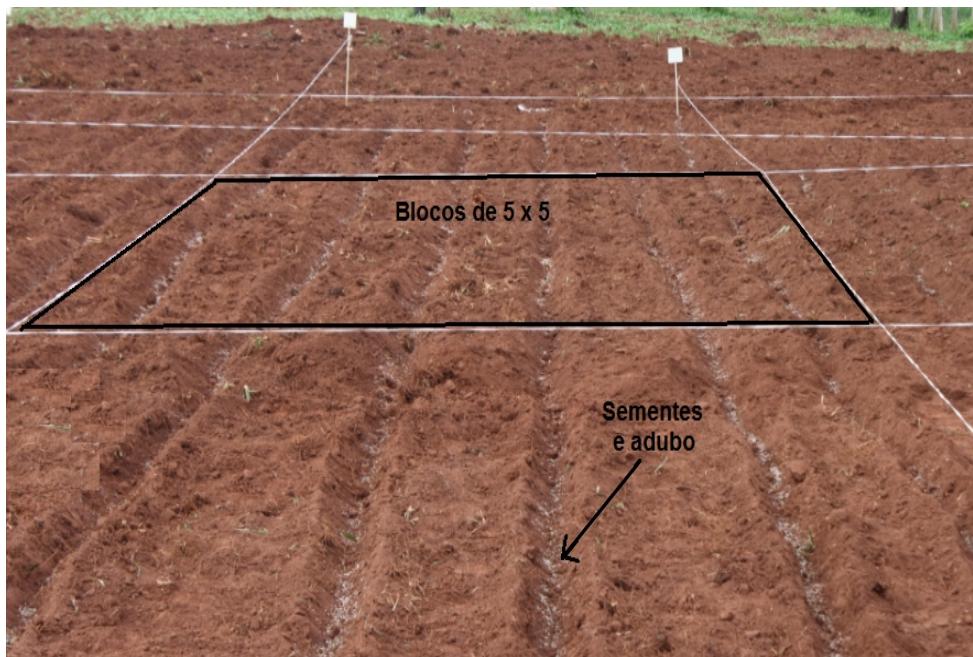


Figura 3.3 - Delimitação das parcelas para determinação de produtividade e plantio

Foi realizada uma correção prévia do solo de acordo com o método de neutralização do Al^{3+} e da elevação dos teores de Ca^{2+} e Mg^{2+} , com calcário dolomítico para elevar o pH para um valor próximo de 5,0 para o bom desenvolvimento do sistema radicular e absorção de nutrientes pelo sorgo. Após a marcação de toda a área foi realizada adubação de base no fundo do sulco, na dose de 400 kg/ha do formulado 8-28-16, equivalente a 32 kg/ha de nitrogênio (N), 112 kg/ha de fósforo (P_2O_5) e 64 kg/ha de potássio(K_2O), baseando na expectativa de produção de biomassa total da parte aérea superior de 60 t/ha (ALVES et al., 1999). As demais ações realizadas durante o desenvolvimento das cultivares foram semelhantes as adotados para o sorgo na região.

Aos 20 dias após o plantio do sorgo sacarino foi efetuada a adubação de cobertura com 200 kg/há de ureia. A primeira semeadura foi realizada dia dezoito de janeiro de 2012 (safra agrícola 2012) e a segunda semeadura foi realizada no dia vinte e oito de Novembro de 2012 (safra agrícola 2013). As duas semeaduras foram realizadas manualmente com auxílio de réguas marcadoras, que foram desenvolvidas de acordo com cada população de plantas proposta.

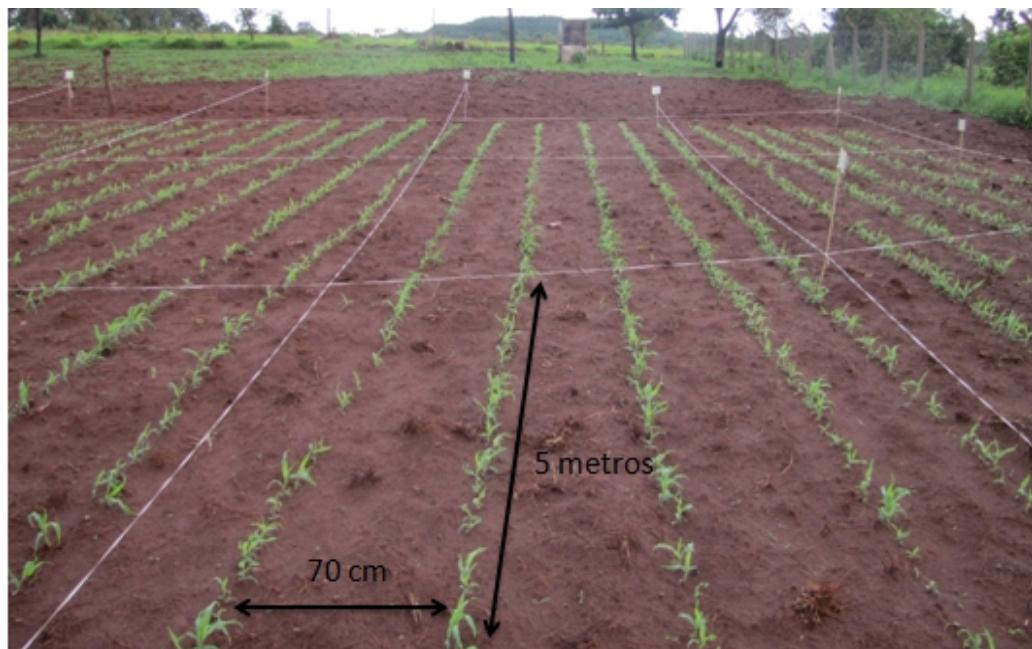


Figura 3.4 - Espaçamento e comprimento entre as fileiras de sorgo

3.2 Colheita do sorgo e determinação da produtividade

A colheita das parcelas de sorgo sacarino foram realizadas com 120 dias após o plantio, ou seja, após os genótipos atingirem a maturidade fisiológica dos grãos. As avaliações foram feitas com os colmos sem folhas e sem panículas (Figura 3.5) das duas fileiras centrais (ensaios em duplicata) de cada parcela como pode se visualizado na Figura 3.6. O restante das linhas de cada parcela foram utilizadas para extração do caldo utilizado em todos os ensaios de fermentação deste trabalho.

Os parâmetros avaliados foram: altura de plantas (distância média em metros da base rente ao solo até a extremidade das panículas, em dez plantas escolhidas aleatoriamente na parcela); produção de colmos (pesagem em kg da massa fresca dos colmos da linha de 5 metros eliminando folha e panícula e posterior conversão em kg/ha considerando o espaçamento adotado); produção de açúcar total (baseado na determinação de açúcar total presentes no caldo extraído em toda linha e posterior conversão em kg de açúcar/ha); produção de etanol (baseado na determinação de açúcar total presentes no caldo extraído em toda linha e no volume de caldo extraído com posterior conversão em kg de etanol/ha) e produção de fibra. A determinação de fibra foi realizada de acordo com metodologia desenvolvida pela Coopersucar (2011).



Figura 3.5 - Colmos de sorgo sacarino sem folha e sem panícula para extração do caldo e pesagem



Figura 3.6 - Colheita dos colmos centrais de cada parcela para determinação dos parâmetros de produtividade

Todos os parâmetros da mesma cultivar foram comparados entre si para as diferentes datas de semeadura. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de médias. Na análise de variância empregou-se o teste F considerando o nível de significância de 5%. Como o resultado do teste F indicou que há diferença entre as médias dos tratamentos,

utilizou-se o programa Sisvar 4.1 e o teste de médias de Scott-Knott a 1 e 5% de probabilidade.

Durante estes ensaios, dados meteorológicos de temperaturas médias ($^{\circ}\text{C}$) e pluviosidade (mm) da região foram coletados na área experimental, cujos dados georeferenciais foram: altitude = 625m; latitude = $19^{\circ}01'12''\text{S}$ e longitude = $49^{\circ}28'35''\text{O}$. Os dados meteorológicos foram coletados na Estação Climatológica da Fazenda Experimental FEIT (OMM:83521) situadas no município de Ituiutaba - MG.

3.3 Extração do caldo

Para a obtenção do caldo para as análises, os colmos do sorgo sacarino de cada cultivar, sem folha e sem panícula, foram submetidos a um processo de extração utilizando um sistema de moenda simples que remove o caldo por pressão, como pode se visualizado na Figura 3.7. Os colmos do sorgo sacarino foram submetidos ao processo de pressão (passados pela moenda) por duas vezes consecutivas, não sendo possível uma outra extração devido degradação das fibras após a segunda extração, como pode ser visualizado na Figura 3.8. O caldo proveniente desta extração foi utilizado nas análises de caracterização química e de fermentação para cada cultivar (Figura 3.8). Nesta Figura, também pode-se visualizar o bagaço do sorgo sacarino após extração.



Figura 3.7 - Moenda utilizada na extração do caldo



Figura 3.8 - Bagaço e caldo do sorgo sacarino

Após a extração o caldo foi peneirado, filtrado, acondicionado em frascos de plástico e congelado em freezer na temperatura de $-20 (\pm 2^{\circ}\text{C})$.

3.4 Caracterização química do caldo

Foram feitas as seguintes determinações químicas: glicose, frutose, sacarose, amido, nitrogênio, fósforo, cálcio e magnésio. A quantificação de açúcares (sacarose, glicose e frutose) foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A cromatografia líquida é uma técnica de separação física conduzida por uma fase líquida. A amostra é separada em seus componentes constituintes (ou analíticos), distribuindo-se entre a fase móvel (líquido que flui) e uma fase estacionária (absorventes embalados dentro de uma coluna).

As amostras de caldo de sorgo sacarino foram centrifugadas para remoção do amido, diluídas (100 vezes) com água ultrapura, filtrada por meio de uma membrana (tamanho de poro 0,22 um, Millipore) e injetadas no sistema cromatográfico da marca Shimadzu modelo LC-20A Prominence. Utilizou-se uma coluna SUPELCOGEL Ca, água deionizada como fase móvel, fluxo de 0,5 mL/mim, temperatura do forno de 80°C e volume de injeção de 20 μL . Todos os ensaios de caracterização do caldo foram conduzidos em triplicata.

As análises de nitrogênio foram realizadas utilizando o método de Kjeldahl semi-micro que se baseia na transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio por meio da digestão com ácido sulfúrico e posterior destilação com liberação da amônia, segundo metodologia proposta por Malavolta e Vitti (1997).

A determinação do teor de fósforo foi realizada empregando a metodologia da calorimetria do metavanadato de amônio, que se baseia na formação de um composto amarelo após a adição do reativo metavanadato/molibdato de amônio proposta por Malavolta e Vitti (1997). As determinações de cálcio e magnésio no caldo do sorgo sacarino foram executadas utilizando o princípio de espectrofotometria de absorção atômica, segundo metodologia proposta por Malavolta e Vitti (1997).

A concentração do amido no caldo do sorgo sacarino foi determinada de acordo com o procedimento descrito por Miller (1959). Este método é baseado na redução, em meio alcalino, do ácido 3,5-dinitrossalicílico em ácido 3-amino-5-nitrossalicílico, por ação dos açúcares redutores, originando um complexo acastanhado que por sua vez é dosado espectrofotometricamente a 540 nm. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro modelo *600 plus* – FEMTO em cubeta de vidro. Todas as metodologias de análises descritas anteriormente estão detalhadas no Anexo A.

3.5 Construção da curva de maturação e determinação dos nutrientes

A construção da curva de maturação teve como objetivo avaliar a sequências de mudanças físico-químicas que ocorreram no decorrer dos dias de maturação das diferentes cultivares, bem como acompanhar a evolução da formação de açúcares nos colmos do sorgo sacarino para caracterizar a melhor época de colheita para as cultivares em estudo.

Amostras, contendo 8 plantas de sorgo sacarino coletadas de cada fileira (Figura 3.9), foram coletadas semanalmente para acompanhamento da formação de açúcares (sacarose, glicose e frutose), composição dos nutrientes (nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio) e amido ao longo do período de maturação do sorgo sacarino das 4 cultivares.

O início da colheita do sorgo para avaliação de açúcares e nutrientes do primeiro experimento ocorreu 77 dias após o plantio e o término da colheita ocorreu com 148 dias contabilizando um total de 11 semanas de avaliação. No segundo experimento, a primeira colheita para o acompanhamento dos açúcares também ocorreu 77 dias após o plantio com o término ocorrendo após 168 dias após o plantio o que contabilizou um total de 14 semanas de acompanhamento destes açúcares.
