



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



**AVALIAÇÃO DA HIDRÓLISE DO SORGO GRANÍFERO NA
PRODUÇÃO DE ETANOL E COPRODUTOS**

LAYSE CAIXETA FERREIRA

Uberlândia –MG

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



AVALIAÇÃO DA HIDRÓLISE DO SORGO GRANÍFERO NA PRODUÇÃO DE ETANOL E COPRODUTOS

Layse Caixeta Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Ubirajara Coutinho Filho.

Co-orientador: Prof.^a Dr.^a Vicelma Luiz Cardoso.

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Uberlândia

2020

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

F383 2020	<p>Ferreira, Layse Caixeta, 1994- Avaliação da hidrólise do sorgo granífero na produção de etanol e coprodutos [recurso eletrônico] / Layse Caixeta Ferreira. - 2020.</p> <p>Orientador: Ubirajara Coutinho Filho. Coorientadora: Vicelma Luiz Cardoso. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Engenharia Química. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2020.46 Inclui bibliografia.</p> <p>1. Engenharia química. I. Coutinho Filho, Ubirajara ,1970-, (Orient.). II. Cardoso, Vicelma Luiz,1960-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Engenharia Química. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 66.0</p>
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química
 Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 1K, Sala 206 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: (34)3239-4249 - www.ppgeq.feq.ufu.br - secppgeq@feq.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Engenharia Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado, 03/2020, PPGEQ				
Data:	04 de fevereiro de 2020	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	11h
Matrícula do Discente:	11812EQU011				
Nome do Discente:	Layse Caixeta Ferreira				
Título do Trabalho:	Avaliação da hidrólise do sorgo granífero na produção de etanol e co-produtos				
Área de concentração:	Desenvolvimento de processos químicos				
Linha de pesquisa:	Engenharia Bioquímica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Estudo da fermentação alcoólica				

Reuniu-se na sala 1K228, Campus Santa Mônica, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, assim composta: Professores Doutores: Janaina Fischer - ICEG/UPF; Maria Lúcia Ferreira Simeone - Embrapa Milho e Sorgo/Sete Lagoas; Fabiana Regina Xavier Batista - PPGEQ/UFU; Vicelma Luiz Cardoso - PPGEQ/UFU, coorientadora e Ubirajara Coutinho Filho - PPGEQ/UFU, orientador da candidata. Ressalta-se que a Dra. Maria Lúcia Ferreira Simeone participou da defesa por meio de videoconferência desde a cidade de Sete Lagoas/MG e a Profa. Dra. Janaina Fischer desde a cidade de Passo Fundo/RS. Os demais membros da banca e a aluna participaram *in loco*.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Prof. Dr. Ubirajara Coutinho Filho, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

Documento assinado eletronicamente por **Ubirajara Coutinho Filho, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/02/2020, às 10:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vicelma Luiz Cardoso, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/02/2020, às 10:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabiana Regina Xavier Batista, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/02/2020, às 10:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Janaína Fischer, Usuário Externo**, em 04/02/2020, às 11:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Lúcia Ferreira Simeone, Usuário Externo**, em 04/02/2020, às 13:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1844990** e o código CRC **6F770D2C**.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela vida e possibilidade de poder estudar e realizar este trabalho.

Aos meus pais, Maria Geralda e José Aparecido, os incentivos e conselhos constantes além de todos os esforços na vida em construir a pessoa que sou.

A minha irmã Larysse, pela amizade, ajuda, respeito, compreensão e paciência.

O meu noivo Luan pelo estímulo e apoio incondicional desde o primeiro momento, pela paciência e companheirismo.

Ao meu orientador professor doutor Ubirajara Coutinho Filho, pela orientação, incentivo e oportunidade de trabalhar na área de Engenharia Bioquímica, agradeço também as discussões e contribuições científicas.

As professoras doutoras Vicelma Luiz Cardoso, Fabiana Regina Xavier Batista, Janaína Fischer pelas diversas contribuições e disponibilidade no desenvolvimento do trabalho.

À EMBRAPA Milho e Sorgo por intermédio da pesquisadora doutora Maria Lúcia Ferreira Simeone, por possibilitar o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos Argileu e Adrielly pela amizade, carinho e apoio de sempre.

Aos colegas da NucBio, pela ajuda e apoio durante a realização do trabalho.

A FEQUI pela disponibilidade de infraestrutura.

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

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE SÍMBOLOS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - OBJETIVOS.....	3
2.1 – Objetivo Geral.....	3
2.2 – Objetivos Específicos	3
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 – Bioenergias	4
3.2 – Produção de etanol	5
3.3 – Matérias-primas amiláceas para produção de etanol	6
3.4 – Aspectos gerais da cultura do sorgo	6
3.4.1 – Sorgo granífero	9
3.5 – Enzimas	11
3.5.1 – Hidrólise enzimática do amido	12
3.6 – Hidrólise ácida.....	15
3.7 – Fermentação alcoólica	16
3.8 – Aproveitamento de co-produtos	18
4– MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 – Biomassa	19
4.2 – Moagem	19
4.3 – Caracterização do grão	20
4.4 – Microrganismo e enzima	21
4.5 – Hidrólise e fermentação	21
4.6 – Dosagem de açúcar e etanol.....	24
4.6.1 – Quantificação de açúcar e etanol.....	25
4.6.2 – Rendimento prático e teórico	25
4.6.3 – Eficiência.....	26

4.7 – Recuperação de biomassa	26
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 – Análise da caracterização	27
5.2 – Condições ácidas de hidrólise	28
5.3 – Produção de etanol com a etapa de hidrólise ácida	31
5.4 – Efeito da concentração de enzima e tempo de fermentação	34
5.5 – Produção de etanol na melhor condição da enzima	36
6 – CONCLUSÃO	38
6.1 – Conclusão	38
6.2 – Sugestões para trabalhos futuros	38
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Produção de sorgo no mundo (Fonte: FAOSTAT, 2019).....	7
Figura 3.2 - Produção/ Rendimento de sorgo no mundo (Fonte: FAOSTAT, 2019)	8
Figura 3.3 - Produção/ Rendimento de sorgo no Brasil (Fonte: FAOSTAT, 2019).....	8
Figura 3.4 - Sorgo Granífero (Fonte: AGRILIFE, 2010)	10
Figura 3.5 - Diferentes cores de grãos de sorgo granífero (Fonte: BRANDRÃO, 2000)	11
Figura 3.6 - Representação da estrutura da amilose [polímero linear composto por D-glicoses unidas em α -(1-4)] (Fonte: adaptado de LAJOLO e MENEZES, 2006).....	13
Figura 3.7 - Representação da estrutura da amilopectina [polímero ramificado composto por D-glicoses unidas em α -(1-4) e α -(1-6)](Fonte: adaptado de LAJOLO e MENEZES, 2006)	13
Figura 3.8 - Representação da estrutura maltose (Fonte: adaptado de BRÁS, 2015)	14
Figura 3.9 - Representação das estruturas parciais dos componentes lignocelulósicos e derivados maltose (Fonte: FERREIRA, ROCHA e SILVA, 2009).....	16
Figura 4.1 - Grãos de sorgo granífero (Fonte: o próprio autor).....	19
Figura 4.2 - Hidrólise ácida em diferentes concentrações (Fonte: o próprio autor)	22
Figura 4.3 - Processo de hidrólise e fermentação separadas (Fonte: o próprio autor).....	22
Figura 4.4 - Fluxograma do processo de produção de etanol (Fonte: o próprio autor)	24
Figura 5.1 - Produção de açúcar (kg /100kg de grão) maltose e glicose no processo de hidrólise ácida do sorgo 1G100 (a 120 °C, 25 e 50 min).	29
Figura 5.2 - Produção de etanol no processo de hidrólise e fermentação separadas com diferentes tempos de hidrólise do sorgo 1G100 (a 25 °C, pH 4,5, 72h).....	30

Figura 5.3 - Produção de açúcares (kg/100 kg grão de sorgo) depois da hidrólise ácida (50 min, 120°C ± 1°C).	31
Figura 5.4 - Produção de açúcares (kg/ 100kg grão) e etanol (L/ 100kg grão) na fermentação (72h, 25°C).	33
Figura 5.5 - Produção de glicerol (kg/100kg) produzido na fermentação enzimática.	35
Figura 5.6 - Produção de etanol (kg/100kg) produzido na fermentação enzimática.	35
Figura 5.7 - Produção de glicerol(kg/100kg grão de sorgo) e etanol (L/100kg grão de sorgo) na fermentação (100h, 25°C).	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 – Condições de hidrólise ácida e enzimática realizada em grãos de sorgo	23
Tabela 5.1 – Caracterização da biomassa (g/100g de sorgo).....	27
Tabela 5.2 – Rendimento prático/ eficiência da hidrólise ácida e fermentação (g/100g de sorgo)	34
Tabela 5.3 – Rendimento prático/ eficiência da fermentação enzimática(g/100g de sorgo)	37

LISTA DE SÍMBOLOS

Y_p	Rendimento prático	%
Y_{ts}	Rendimento teórico (base amido)	%
Y_{th}	Rendimento teórico (base hidrolisado)	%
η_a	Eficiência (processo de hidrólise ácida)	%
η_e	Eficiência (processo enzimático)	%
C_a	Concentração de açúcares	g/L
C_e	Concentração de etanol	g/L
C_{gli}	Concentração de glicose	kg/100kg de grão
C_{mal}	Concentração de maltose	kg/100kg de grão
C_{am}	Concentração de amido	kg/100kg de grão
TSC	Concentração total de açúcar	kg/100kg de grão
v	Volume do fermentado	L
m	Massa de sorgo (base seca)	g
ρ	Densidade do etanol (20°C)	kg/m ³

RESUMO

A busca por novas fontes de matérias-primas para a produção de biocombustíveis vem crescendo, juntamente com o interesse de recuperação da biomassa utilizada no processo de produção. Nesse contexto, dentre as diversas biomassas alternativas renováveis disponíveis para produção de etanol, o sorgo granífero se destaca, pois seus grãos possuem elevados teores de amido, que podem ser hidrolisados em açúcares como maltose, glicose e frutose e podem, portanto, ser facilmente fermentados para produção de etanol. Neste trabalho, os grãos de sorgo granífero de cinco cultivares produzidas pela Embrapa Milho e Sorgo de Sete Lagoas (BRS330, BRS373, 1G100, 1167052, 1167092), foram caracterizados os teores de amido, óleo, celulose, hemicelulose A, hemicelulose B e umidade. Os diferentes híbridos de sorgo apresentaram características semelhantes em termos de umidade 10% (g/100g de grão) e teor de amido 30% (g/100g de grão). Foram avaliados também dois diferentes tipos de fermentação alcoólica. No processo de hidrólise e fermentação separadas, o ácido sulfúrico à 1% se destacou na produção de açúcares no tempo de 50 minutos de hidrólise ácida e fermentação de 72 horas. O sorgo 1G100 apresentou o melhor desempenho em produtividade de etanol (28,23 L/100 kg de grão) e rendimento prático ($Y_p = 83,34\%$). Referente ao processo de fermentação e sacarificação simultâneas foram feitas avaliações da utilização da enzima amiloglucosidase na hidrólise enzimática do amido presente no grão de sorgo granífero. Verificou-se que a concentração de 1,5 U/g de enzima nos grãos e 100 horas de fermentação proporcionaram maior hidrólise do amido presente, com destaque para o sorgo 1167052 com produtividade de etanol (28,59 L/100 kg de grão) e rendimento prático ($Y_p = 100\%$). Os híbridos de sorgo apresentaram recuperação de biomassa superior no processo de fermentação enzimática com valores próximos de 30%.

Palavras-chave: Sorgo granífero, etanol, cultivar BRS 330, cultivar BRS 373, cultivar 1G100, cultivar 1167052, cultivar 1167092, hidrólise ácida e enzimática de biomassa.

ABSTRACT

The search for new sources of raw materials for biofuel production has been growing, along with the interest of recovering the biomass used in the production process. In this context, among the various renewable alternative biomasses available for ethanol production, grain sorghum stands out because its grains have high starch content, which can be hydrolyzed to sugars such as maltose, glucose and fructose and can therefore be easily fermented for ethanol production. In the current work, the characterization of the grain sorghum grains of five cultivars produced by Embrapa Maize and Sorghum of Sete Lagoas (BRS330, BRS373, 1G100, 1167052, 1167092) was first determined, quantifying the starch, oil, cellulose, hemicellulose A, hemicellulose B and moisture. The different sorghum hybrids had similar characteristics in terms of moisture 10% (g / 100g grain) and starch content 30% (g / 100g grain). It was also evaluated two different types of alcoholic fermentation, in the hydrolysis and fermentation process separated the 1% sulfuric acid stood out in the sugar production in 50 minutes of acid hydrolysis and 72 hours fermentation. Sorghum 1G100 presented the best performance in ethanol yield (28.23 L / 100 kg of grain) and practical yield ($Y_p = 83.34\%$). Concerning the simultaneous fermentation and saccharification process, the use of the amyloglucosidase enzyme in the enzymatic hydrolysis of the starch present in the grain sorghum grain was evaluated. It was found that the concentration of 1.5 U / g enzyme in the grains and 100 hours of fermentation provided greater hydrolysis of starch, highlighting sorghum 1167052 with ethanol yield (28.59 L / 100 kg grain) and practical yield ($Y_p = 100\%$). Sorghum hybrids showed superior biomass recovery in the enzymatic fermentation process with values close to 30%.

Keywords: Sorghum grain, ethanol, cultivar BRS 330, cultivar BRS 373, cultivar 1G100, cultivar 1167052, cultivar 1167092, acid and enzymatic hydrolysis of biomass.

1- INTRODUÇÃO

O etanol representa uma importante fonte de energia capaz de substituir os combustíveis fósseis (SZAMBELAN et al., 2018 a). Assim, a cana-de-açúcar, a sacarose e o amido destacam-se como matérias-primas na produção de etanol em todo o planeta (GUMIENNA et al., 2016; ZHANG et al., 2019). Embora o milho e a cana-de-açúcar correspondam a maior parte da biomassa utilizada mundialmente na produção de etanol, pesquisas envolvendo celulose e outras fontes de amido são de grande interesse na expansão da produção para atender a demanda total da sociedade (MOREIRA, 2000; DE ARAÚJO et al., 2017; RAMÍREZ, FERRARI e LAREO, 2016).

A substituição do etanol pelos combustíveis derivados de petróleo tem-se tornado de suma importância em pesquisas, principalmente, pelo aumento da frota de veículos, elevação dos preços do petróleo e pela questão ambiental que visa a necessidade de reduzir as emissões de gases na atmosfera. Diante deste cenário, tem-se a importância da diversificação da matéria-prima para fins energéticos. Isso significa que a busca de novas variedades de plantas que possam ser fontes de biomassa para a produção de etanol tornou-se objeto de pesquisa em diversos países (SZAMBELAN et al., 2018a).

Dessa forma, a produção de etanol a partir de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] tem-se destacado como uma grande estratégia para utilizar a matéria-prima não apenas no setor alimentício, mas também como suplemento na produção de energia (LIU et al., 2015). Entre as fontes de amido disponíveis no mundo, o grão de sorgo representa uma biomassa alternativa ainda pouco explorada que se destaca por ser rica em amido e apresentar baixo custo de produção. Atualmente esse grão é amplamente cultivado como o quinto cereal mais plantado no mundo, atrás do trigo, arroz, milho e cevada (LIU et al., 2015; MAY et al., 2013).

Popularmente integrado na produção de ração animal, o sorgo passou a ser visto como um potencial aliado da cana-de-açúcar, desde seu plantio até a colheita, podendo então ser cultivado nos períodos de entressafra da cana, promovendo uma continuidade na operação da usina, até mesmo porque os maquinários e equipamentos utilizados são semelhantes, necessitando-se apenas de poucas modificações (LANDAU et al., 2015).

O sorgo pode ser classificado em cinco variedades: granífero, forrageiro, sacarino, vassoura e biomassa (SHAKOOR et al., 2014). Na presente dissertação foram estudados cinco diferentes híbridos de sorgo granífero (BRS330, BRS373, 1G100, 1167052, 1167092), que possuem características como: resistência ao estresse hídrico; porte baixo (colheita com maquinários tradicionais); grãos densos e tolerantes a deterioração; secagem rápida, entre outras (MAGALHÃES; DURÃES; SCHAFFERT, 2000; RODRIGUES, 2010).

O processo de produção de etanol a partir de sorgo granífero tem-se uma importante etapa a hidrólise, podendo ser via ácida ou enzimática. As matérias-primas composta por amido são submetidas aos processos de gelatinização e liquefação do amido. Isto é seguido pela sacarificação de amido a açúcares fermentáveis (WANG et al., 2007). Dentre as alternativas utilizadas na fermentação alcoólica destacam-se os métodos de sacarificação e fermentação simultâneas e hidrólise e fermentação separadas (ÖHGREN et al., 2007; PRAJAPATI et al., 2015). Assim neste trabalho, avaliou-se os diferentes processos de hidrólise com sorgo granífero, juntamente com a produção de etanol e coprodutos.

2 – OBJETIVOS

2.1 – Objetivo Geral

- Avaliar a produção de etanol empregando grãos de sorgo granífero com diferentes híbridos, fornecido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa).

2.2 – Objetivos Específicos

- Caracterizar a biomassa, sorgo granífero dos tipos: BRS330, BRS373, 1167052, 1167092 e 1G100;
- Avaliar e otimizar o uso de ácidos e seus efeitos no processo de hidrólise ácida;
- Avaliar e otimizar a hidrólise enzimática utilizando a enzima amiloglucosidase no processo de hidrólise enzimática (AMG 300L);
- Estudar as melhores condições para a produção de etanol, avaliando: tempo de hidrólise e fermentação; concentrações de ácido e de enzima necessários;
- Avaliar a recuperação de biomassa como coproduto.

3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 – Bioenergias

A demanda de energia global vem crescendo continuamente devido a rápida expansão da população mundial e do avanço industrial principalmente em países em desenvolvimento (BOZELL, 2010; KHATIWADA; VENKATA; JOHNSON, 2016). A principal demanda de energia ainda é suprida atualmente por combustíveis fósseis convencionais, incluindo petróleo, carvão e gás natural (ZHU et al., 2017). A utilização de fontes de combustíveis fósseis em sua grande maioria no futuro apresenta grandes preocupações, pois estes recursos são limitados no meio ambiente, aumentando o seu custo e os problemas associados (SHAFIEE; TOPAL, 2010; KING, 2017).

Dessa forma, tem-se um grande interesse em explorar fontes alternativas de energias buscando melhorar sua eficiência energética para manter um crescimento sustentável. Entre elas destaca-se a produção de biocombustíveis derivados de biomassa, como o etanol (ZHU et al., 2012).

Os biocombustíveis integram apenas uma parcela das bioenergias que existem na matriz energética que abrangem ainda o carvão vegetal, o biogás, a lenha, a cogeração da energia elétrica e o calor a partir das biomassas. Estas bioenergias formam apenas uma parcela do conjunto das produções derivadas da exploração ecologicamente sustentável do complexo da biodiversidade (SILVA, 2010).

As energias renováveis ao longo do tempo vem ganhando espaço, ampliando cada vez sua presença nas matrizes energéticas dos países. Com base nos dados da Empresa de Pesquisa Energética – EPE (2017) no Balanço Energético Nacional – BEN de 2018, tem-se o crescimento na participação de energias renováveis na matriz energética do Brasil, conseqüentemente o país ocupa uma posição entre as mais altas do mundo com 42,9% de energias renováveis presente na matriz energética entre elas se destacam a energia hidráulica com 12%, derivados de biomassa (cana-de-açúcar) com 17%, lenha e carvão vegetal com 8%.

3.2 – Produção de etanol

O etanol, como fonte de energia renovável e limpa, é considerado há muito tempo uma alternativa adequada para substituir os fontes não renováveis e atualmente é um dos combustíveis mais utilizados para transporte, sendo responsável por 90% da produção total de biocombustíveis, em diferentes partes do mundo (ABUBACKAR et al., 2016, ZAKARIA et al., 2016).

Vários países têm dado preferência a políticas que beneficiem a produção e a utilização de biocombustíveis. Caracterizado como 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 Brasil e também começou a ser desejado por vários países (VRIES et al., 2010).

O etanol é declarado como uma fonte de energia alternativa que pode ser produzido a partir de biomassa e produtos agrícolas (BALAT e BALAT, 2009; MOJOVI et al., 2009). No mundo, o etanol é produzido principalmente a partir de fontes de sacarose e glicose, como cana-de-açúcar e beterraba (açucareira), fontes de amido como milho e outros cereais, fontes de celulose e hemicelulose como o bagaço de cana-de-açúcar (LIN, TANAKA, 2006; MUSSATO et al., 2010).

A produção de etanol no Brasil tem como principal matéria-prima a cana-de-açúcar. Baseado no relatório elaborado pela FAO (2015), o etanol produzido a partir da cana-de-açúcar, deve crescer cerca de 50% nos próximos dez anos para quase 42,5 bilhões de litros, sendo que 39 bilhões seriam apenas consumo interno no país. Embora, melhores projeções são previstas para os próximos anos, devido também ao crescimento do consumo interno com produção projetada para 2019 de 58,8 bilhões de litros, sendo consumo interno 50 bilhões de litros e as exportações em 8,8 bilhões de litros (MAPA, 2015).

De acordo com dados estabelecidos para o consumo de etanol nos próximos anos, requer um aumento significativo na produção do biocombustível e, nesse contexto, estimula-se a pesquisa e o desenvolvimento de novas matérias-primas para o etanol (EMBRAPA, 2009).

3.3 - Matérias-primas amiláceas para produção de etanol

As matérias-primas amiláceas possuem em sua composição o amido, classificado como polissacarídeo de fórmula geral $(C_6H_{10}O_5)_n$ (BARCELOS, 2012). O amido é composto principalmente por apenas dois tipos de macromoléculas, a amilose e amilopectina. A amilose é um o polímero linear caracterizado pelas subunidades serem unidas por ligações glicosídicas α -1,4. A amilopectina é um polissacarídeo ramificado, com ligações lineares do tipo α -1,4 e as ligações das ramificações, que ocorrem de 12 em 12 subunidades, são do tipo α -1,6 (BULÉON et al., 1998).

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 outros (TESTER, KARKALAS, QI, 2004).

Para que a matéria-prima seja submetida ao processo de fermentação alcoólica é necessário a sacarificação, ou seja, hidrolisar o amido em açúcares menores, solúveis e fermentescíveis (glicose e maltose), pois na etapa de fermentação alcoólica, a principal levedura utilizada, não possui capacidade de hidrolisar o amido. O processo de sacarificação pode ser químico ou enzimático, cada processo possui suas vantagens e desvantagens. No caso da fermentação alcoólica, as leveduras não possuem a capacidade de hidrolisar o amido (HANSEN et al., 2008).

Entre as matérias-primas amiláceas, o milho e a mandioca são as mais utilizadas 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, GOYAL, 2009). Os Estados Unidos produzem 58,0% do etanol mundial e o Brasil 26% (EERE, 2018). A principal matéria-prima usada para produção de etanol no mundo é o milho (67,0%), o restante é produzido quase que totalmente a partir da cana-de-açúcar (OCDE, 2016).

3.4 – Aspectos gerais da cultura do sorgo

O sorgo (*Sorghum bicolor*, L. Moench) é uma planta de origem africana que, possivelmente, foi introduzido na região nordeste do Brasil, onde se encontra a maior variabilidade em espécies silvestres e cultivadas (BASSAM, 2010; RIBAS, 2003).

A cultura de sorgo é uma planta do tipo C4, que detém elevada taxa fotossintética e para seu bom desenvolvimento necessita de temperaturas superiores a 21°C (FERNANDES et al., 2014; MAGALHÃES, DURÃES e SCHAFFERT et al., 2000).

O sorgo possui características similares em quantidades de vitaminas presentes na planta, comparando com o milho e o trigo, apenas tendo diferenças no menor teor de riboflavina (vitamina B2). O tanino presente no grão possui relação direta com a constituição genética e isso atribui a ele a resistência em ataque de pássaros, porém, essa substância é inibitória, que acarreta problemas na digestibilidade do grão (FERNANDES, 2014). A planta vem sendo estudada e modificada durante os anos, principalmente por interesse de sua comercialização e produção de produtos, sendo que a maior parte do sorgo vendido e plantado no Brasil não apresenta tanino na sua composição, e apenas 4% do sorgo semeado apresenta tanino (TSUNECHIRO, MARIANO e MARTINS, 2002).

O sorgo possui ampla variabilidade de aplicação e produção de distintos produtos, sendo o quinto cereal mais cultivado em todo o mundo, Figura 3.1, em amplas áreas geográficas da América, África, Ásia e Oceania (SAKELLARIOU-MAKRANTONAKI et al., 2007; FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 2009).

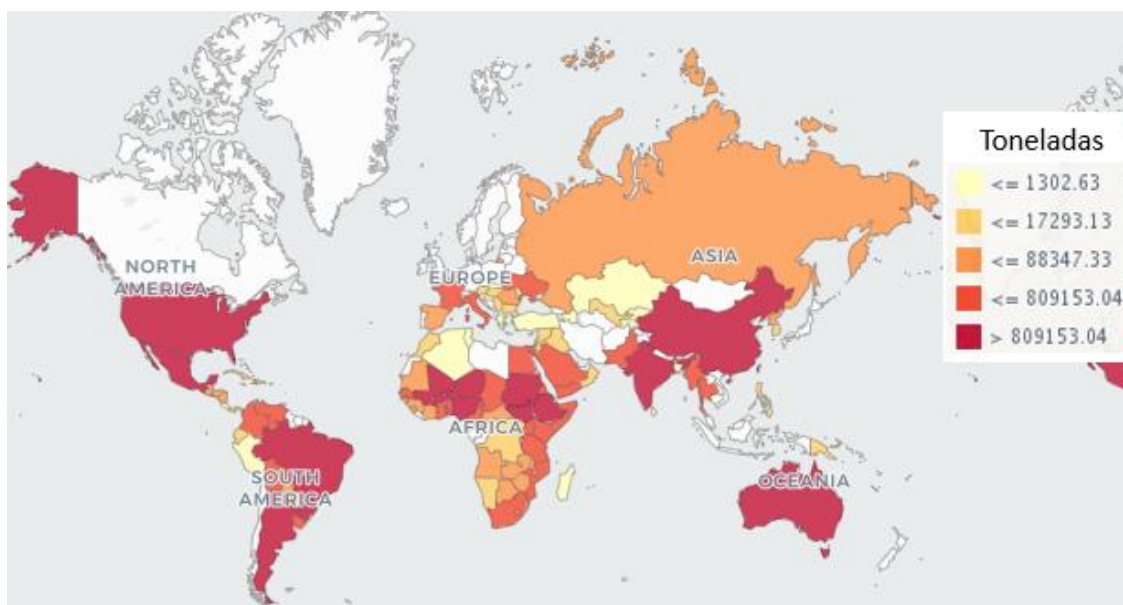


Figura 3.1 - Produção de sorgo no mundo (Fonte: FAOSTAT, 2019)

Segundo FAOSTAT (2019), pode-se observar os mercados global e brasileiro na produção de sorgo atingiram aproximadamente 62 e 2,2 milhões de toneladas em 2017, respectivamente, de acordo com a Figura 3.2 e 3.3.



Figura 3.2 - Produção/ Rendimento de sorgo no mundo (Fonte: FAOSTAT, 2019)



Figura 3.3 - Produção/ Rendimento de sorgo no Brasil (Fonte: FAOSTAT, 2019)

Dentre as possibilidades de uso do sorgo tem-se a produção de etanol anidro, colas, tintas, vassouras, na extração de açúcar, produção de amido, na alimentação humana, produção de ração para animais, além de ser utilizado como matéria-prima na produção rapadura, óleo comestível e bebidas alcoólicas (SOUZA et al., 2005; RIBEIRO FILHO et al., 2008).

O sorgo pode ser classificado em cinco diferentes espécies com características bem distintas: sorgo granífero, de porte baixo e cujo produto principal são os grãos,

utilizados na fabricação de rações e produção de etanol; sorgo forrageiro, de alta estatura cuja biomassa é utilizada na produção de ensilagem e etanol; sorgo-vassoura, de elevada estatura e utilizada para confecção de vassouras e artesanatos; sorgo sacarino, para produção de etanol (IEA, 2010).

3.4.1 – Sorgo granífero

O sorgo granífero é cultivado com o objetivo de produção de grãos (MAGALHÃES, DURÃES e SCHAFFERT, 2000). É caracterizado por ser uma planta anual, de porte baixo, com altura entre 0,8 e 1,2 m, resistente à seca, se desenvolve em solos com baixa fertilidade adaptada à colheita mecanizada, com ciclo de 100 a 120 dias da semeadura à colheita, que produz na extremidade superior uma panícula (cacho) compacta de grãos (RIBAS, 2003).

O rendimento de grãos pode superar 10 ton/ha e 7 ton/ha, respectivamente, em ambas condições adaptáveis como no verão e em cultivos de sucesso (safrinha). Segundo Resende et al. (2009), cerca de 90% da produção de sorgo no Brasil é cultivada na segunda safra, para obter o aproveitamento das últimas chuvas e do adubo residual da cultura anterior. Embora o sorgo não demonstre todo o seu potencial de colheita devido as condições de solo e clima que é cultivado (FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 2009).

As cultivares de sorgo granífero são divididos em taninosas e não taninosas, aquelas que possuem tanino nos grãos são importantes em regiões que sofrem de ataque de pássaros durante a colheita, podendo ser uma característica favorável em relação a produção de grão, mas em relação a produção de ração para animais como aves e suínos, sua existência provoca a dificuldade de digestão de proteínas na alimentação dos animais (VAN SOEST, 1994). Outra característica da planta é ter aproximadamente os mesmos níveis de proteína, amido, lipídeos, entre outros, mas há a variação de compostos fenólicos em sua composição (MAGALHÃES, DURÃES e SCHAFFERT, 2000).

Os grãos são arredondados (ovais) e relativamente grandes (Figura 3.4). Possuem diferentes cores, que varia desde o branco à tonalidades escuras de roxo, passando pelo

amarelo até a cor púrpura, sendo que os mais comuns são o branco e o pardo, que geralmente são esféricos, mas variando de forma e tamanho (VIÉGAS, 2003).

Podem ser empregados na alimentação humana e animal. Os países desenvolvidos utilizam a farinha de sorgo como substituto ao milho na produção de rações balanceadas para bovinos, suínos e aves. Podem-se usar os grãos diretamente na alimentação animal, sob as condições de moagem não muito fina e a imersão dos grãos em água, com o objetivo de facilitar a digestão e torná-los mais macios (FORNASIERI FILHO e FORNASIERI, 2009).



Figura 3.4 - Sorgo Granífero (Fonte: AGRILIFE, 2010)

A cor do amido dos grãos de sorgo está relacionada com a intensidade dos pigmentos no pericarpo e nas folhas. A Figura 3.5 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, BOYER e LIU, 1983).



Figura 3.5 - Diferentes cores de grãos de sorgo granífero

(Fonte: BRANDRÃO, 2000)

O sorgo tipo granífero possui maior expressão econômica, sua produção mundial de grãos na safra 2014/15 foi estimada em cerca de 64,1 milhões de toneladas métricas, sendo os Estados Unidos e o México os países de maiores produções, empregado principalmente na produção de ração para consumo animal. No Brasil, a produção de grãos alcançou aproximadamente 1,9 milhões de toneladas métricas, com destaque para os estados de Goiás e Minas Gerais em produção e área cultivada (CONAB, 2014).

3.5 – Enzimas

As enzimas são proteínas que apresentam atividade catalítica, sua complexa estrutura molecular enzimática é principalmente constituída por uma parte proteica, mas elas podem estar integradas a outras moléculas, como carboidratos e lipídeos. As estruturas das enzimas são compostas por heteropolímeros (proteínas) constituídos por aminoácidos ligados covalentemente por ligações peptídicas (SCHMIDELL et al., 2001).

A atividade catalítica, bem como a estabilidade e a especificidade da enzima, dependem da sua estrutura tridimensional. Condições ambientais, tais como, pH, temperatura, força iônica do meio afetam a estrutura da enzima e suas propriedades. Outra característica das enzimas além da ação catalítica que reduz significativamente a energia

de ativação, a qual aumenta a velocidade de reação, elas também apresentam elevada especificidade, podendo ser tanto pelo tipo de reação como substrato (SCHMIDELL et al., 2001).

As enzimas são produzidas em processos industriais fermentativos, utilizando-se bactérias, leveduras e fungos em crescimento sobre meios nutritivos adequados (SCIPIONI, 2011).

As condições de atividade das enzimas são bem sensíveis, em razão de serem ativas apenas em uma pequena faixa de acidez-alkalinidade e temperatura do meio. As enzimas apresentam basicamente três propriedades principais: estabilidade, atividade e especificidade (BAILY, OLLIS, 1986; GALVÃO, 2004).

A estabilidade é a capacidade de uma enzima que depende de sua estrutura original, mantida por meio de forças de interação. Alterações em sua estrutura podem ser afetadas por variações no ambiente reacional como temperatura, pH e presença de solventes polares.

A atividade é uma propriedade de uma enzima que atua diretamente na diminuição da energia de ativação necessária para transformar um substrato em produto, aumentando a velocidade de reação.

Já a especificidade define a afinidade em que a enzima possui com a estrutura substrato, como ligações químicas que podem ser atacadas pelos grupos funcionais do sítio ativo da enzima e o substrato que possui grupos funcionais unidos à enzima, permitindo seu correto alinhamento no sítio ativo para que a reação possa ocorrer.

3.5.1 - Hidrólise enzimática do amido

Os grânulos de amido são formados por amilose e amilopectina, sendo o principal componente o monômero glicose. A amilose é um polímero linear da glicose, na qual estão presentes cerca de 99% ligações α (1-4) e 1% de α (1-6), representando 20 a 26% da molécula do amido (Figura 3.6) (BERTOFT e BLENNOW, 2009).

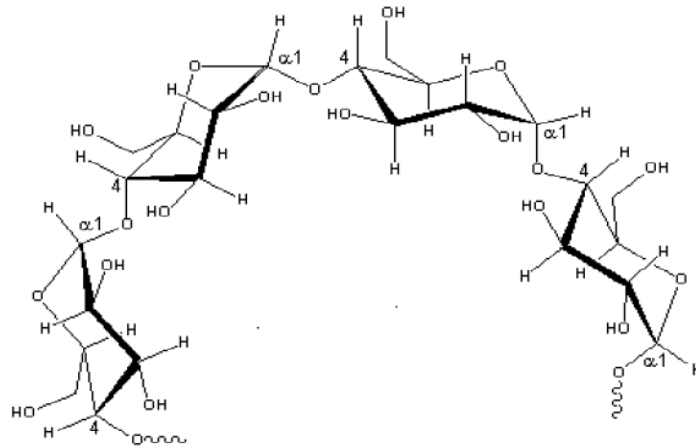


Figura 3.6 - Representação da estrutura da amilose [polímero linear composto por D-glicoses unidas em α -(1-4)]

(Fonte: adaptado de LAJOLO e MENEZES, 2006)

Amilopectina é um polímero ramificado, formado por cadeias de amilose ligados por pontos de ramificação (Figura 3.7), no qual as unidades de glicose estão ligadas em sua grande maioria por ligações α (1-6) (BOBBIO e BOBBIO, 2001). De acordo com a origem botânica do amido varia se a relação entre os dois polissacarídeos e suas respectivas quantidades dependem da fonte de amido e do cultivar (REGULY, 1996).

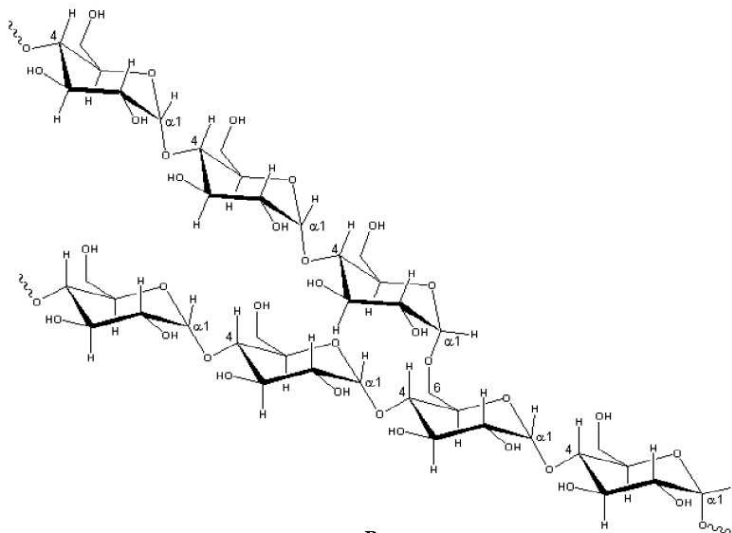


Figura 3.7 - Representação da estrutura da amilopectina [polímero ramificado composto por D-glicoses unidas em α -(1-4) e α -(1-6)]

(Fonte: adaptado de LAJOLO e MENEZES, 2006)

O amido necessita de uma hidrólise prévia de suas cadeias para obter a glicose. No processo de hidrólise, além de água, há necessidade de agentes químicos ou enzimáticos capazes de quebrar as ligações glicosídicas (ZANIN et al., 2000).

A hidrólise enzimática vem se destacando por ser aplicada em processos de produção de etanol a partir de biomassas que possuem teores elevados de componentes amiláceos. As enzimas amilolíticas representam o grupo enzimático de grande aplicação industrial. A alfa-amilase é uma endoenzima carboidrase com atividade hidrolítica das ligações α -1,4 em polissacarídeos dispersos em meio aquoso, contendo, pelo menos, três resíduos de glicose na cadeia. Algumas alfa-amilases apresentam atividade de hidrólise das ligações glicosídicas α -1,6, mas com eficiência reduzida (LÉVÊQUE et al., 2000; SUVD et al., 2001).

A amiloglucosidase, ou glucoamilase, ou glicoamilase, (1,4) (1,6)- α -D-glucan glucanohidrolase, EC 3.2.1.3, de acordo com a “Enzyme Commission of the International Union of Biochemistry”) é uma enzima de indução, sendo importante a presença de maltose (Figura 3.8) ou amido no meio para sua alta produção, utilizada para produzir glicose a partir do amido, hidrolisando ligações tipo α -1,4 e α -1,6 a partir da extremidade não redutora até glicose (LIN et al., 1993; PANDEY et al., 2005). A atividade da amiloglucosidase é lenta no ataque inicial à amilose, pois, sendo uma exoenzima, só atua a partir da extremidade não-redutora e não penetra no interior da estrutura helicoidal da amilose (OBEL, 2001).

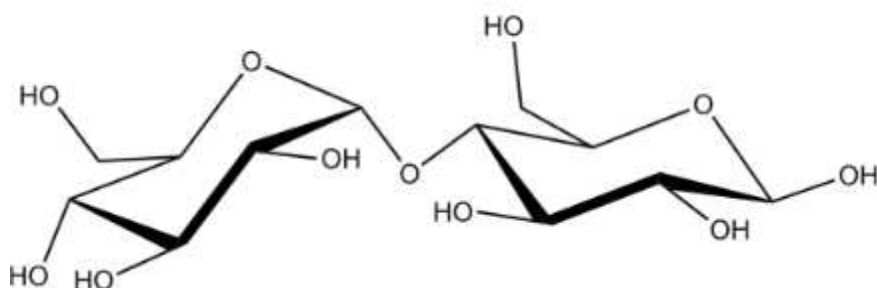


Figura 3.8 - Representação da estrutura maltose (Fonte: adaptado de BRÁS, 2015)

A enzima pode ser encontrada no sangue, em meios de crescimento de bactérias e no malte de cevada, contudo são produzidas por fungos dos gêneros “*Aspergillus*” e

“*Rhizopus*”, tendo importância industrial principalmente devido à habilidade de formar menos produtos de reversão que a hidrólise ácida (PARK e SANTI, 1977), juntamente com à sua elevada taxa de conversão do polissacarídeo em glicose. 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. O pH ótimo da enzima amiloglucosidases produzidos por diferentes fontes encontra-se na faixa de 3,0 a 5,0 e a temperatura ótima, entre 50 a 60 °C (COSTA, 1996; REED, 1975).

O processo de hidrólise enzimática do amido é realizado em duas etapas: a liquefação e a sacarificação. No processo de liquefação, os grânulos de amido são submetidos ao aquecimento em solução aquosa, a temperatura na faixa de 65 a 105°C, para a gelatinização do amido e hidrolisados parcial e irreversivelmente, com auxílio de α -amilase (VAN DER MAAREL et al., 2002).

Após a etapa de liquefação, a solução de maltodextrina é hidrolisada em glicose por enzima desramificante, podendo ser endoenzima ou uma exoenzima, para atuar na quebra das ligações glicosídicas α -1,6 da amilopectina (VAN DER MAAREL et al., 2002). O resultado dessa segunda etapa é uma solução de sacarídeos de baixo massa molecular como glicose e maltose (BAYSAL et al., 2008). A concentração de enzimas é fator essencial na hidrólise de derivados amiláceos e interfere efetivamente no processo.

3.6 – Hidrólise ácida

O processo de hidrólise do amido realizado quimicamente, consiste na utilização de ácidos inorgânicos diluídos, para a liberação de açúcares fermentáveis presente na biomassa. Dentre os ácidos utilizados nesta etapa estão os ácido clorídrico, ácido sulfúrico e ácido fosfórico (ZHANG et al., 2011).

A hidrólise ácida é um dos métodos mais utilizados na produção de biocombustíveis de segunda geração (VANCOV, MCINTOSH, 2012). O processo consiste na decomposição de ligações de hidrogênio principalmente na fração hemicelulósica, bem como em uma pequena fração de celulose e lignina solúvel (Figura 3.9). Isso libera açúcares fermentáveis como C5 (pentose) e C6 (hexose) no hidrolisado.

Com base nas condições de hidrólise severas, os açúcares C5 e C6 liberados podem ser ainda mais degradados em compostos como furfural e 5-hidroximetilfurfural (5-HMF). Os compostos degradados, assim como ácidos orgânicos e fenólicos gerados durante o processo, atuam como inibidores na fermentação dos microrganismos e reduz o rendimento de etanol (KLINKE, THOMSEN, AHRING, 2004).

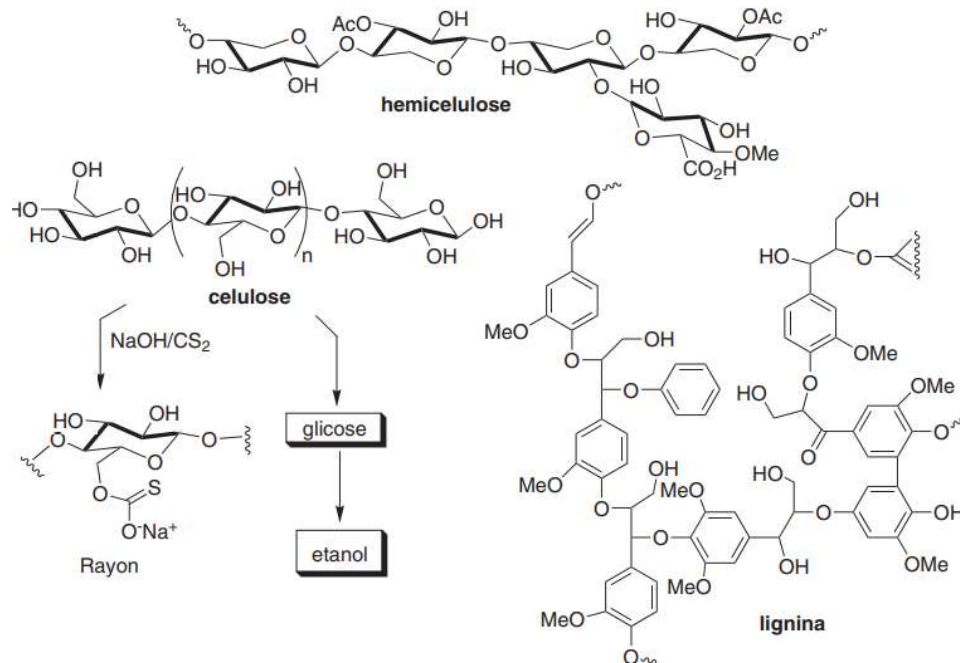


Figura 3.9 - Representação das estruturas parciais dos componentes lignocelulósicos e derivados (Fonte: FERREIRA, ROCHA e SILVA, 2009)

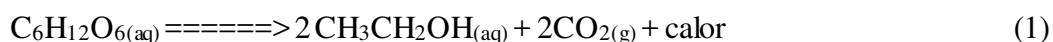
As vantagens desse processo são: reações mais rápidas comparado com outros métodos, pré-tratamento simples das matérias-primas amiláceas, utilização de um catalisador ácido facilmente disponível e de baixo custo (TELLEZ-LUIS, RAMIREZ, VAZQUEZ, 2002).

3.7 – Fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica é um processo biológico por meio da atuação de leveduras sobre açúcares fermentescíveis disponíveis realizado usualmente pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Este processo tem se grande importância em setores da agroindústria, com ênfase para as indústrias sucroalcooleiras (BARCELOS, 2012).

O principal açúcar necessário para a produção de etanol é a glicose mas também metaboliza açúcares como a sacarose e frutose, sendo que esse processo é bastante estudado e não existe microrganismo mais adequado que a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, apresentando bons desempenhos em conversão de glicose a etanol, produtividade, tolerância alcoólica, resistência e robustez a inibidores (MATSUSHIKA et al., 2009).

A transformação do açúcar (glicose) em etanol e dióxido de carbono, envolve 12 reações em sequência ordenada, cada qual catalisada por uma enzima específica. A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, é um aeróbio facultativo, ou seja, tem a habilidade de se ajustar metabolicamente, tanto em condições de aerobiose como de anaerobiose (ausência de oxigênio molecular). Os produtos finais da metabolização do açúcar irão depender das condições ambientais em que a levedura se encontra. Desta forma, enquanto uma porção do açúcar é transformado em biomassa, CO₂ e H₂O em aerobiose, a maior parte é convertida em etanol e CO₂ em anaerobiose (SCHMIDELL et al., 2001). Conforme a Equação 1 de Gay-Lussac que mostra a reação de formação de etanol:



As condições para que as leveduras sejam capazes de produzir etanol a partir de monossacarídeos, são entre 26 e 35°C e o pH ótimo situa-se, geralmente, na faixa de 4 a 5. Os valores de pH dos mostos industriais geralmente se encontram na faixa de 4,4 a 5,5, com a capacidade tamponente, especialmente os preparados com melaço (SCHMIDELL et al., 2001).

O processo de fermentação alcoólica pode ser inibido por vários fatores como os seus próprios produtos (etanol), alguns minerais (potássio e cálcio em excesso), alumínio (elemento estressante da levedura) e entre outros (SCHMIDELL et al., 2001).

Aproximadamente 5% do açúcar metabolizado pela levedura é desviado para gerar tais produtos secundários da fermentação como glicerol, ácidos orgânicos e outros, resulta em um rendimento de 95% em etanol em condições adequadas de fermentação. Em condições industriais, nas quais outros fatores interferem tais como químicos, físicos e microbiológicos, os rendimentos de 90% normalmente são obtidos e apenas 10% do açúcar processado formam outros produtos (SCHMIDELL et al., 2001).

O etanol corresponde o produto principal da fermentação alcoólica e 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, PANEK, 1997).

3.8 – Aproveitamento de coprodutos

Do processo de produção de etanol a partir de cana de açúcar tem-se a geração de diversos coprodutos, como o bagaço, levedura seca, torta de filtro (etapa filtração mecânica do lodo). Dentre os subprodutos e resíduos gerados podem ser utilizados na alimentação humana e animal, na fertilização de solos e na cogeração de energia (SANTOS et al., 2020).

Alguns coprodutos de diversos processos têm sido amplamente utilizados na produção de ração para animais, sendo os principais deles: da indústria açucareira (bagaço de cana-de-açúcar, leveduras); do beneficiamento da mandioca (casca de mandioca, manipueira); das indústrias frutíferas (polpa cítrica, resíduo de abacaxi, resíduo de caju); e da produção de biodiesel (beneficiamento da mamona, girassol, pinhão manso e amendoim) (FERREIRA e URBANO, 2013).

Outra biomassa utilizada na produção de etanol é o milho, seus resíduos possuem proteína, lipídeos e minerais (VERACINI et al., 2013). O coproduto gerado corresponde a 30% dos grãos utilizados na produção de etanol e pode ser empregado na alimentação de animais (FIALHO e BARBOSA, 2008; SPIEHS, WHITNEY e SHURSON, 2002). O destino mais usual é na bovinocultura, porém já tem sido incluído como alimento na dieta de aves e suínos (ABOUSEKKEN, 2014; LI et al., 2012; IEA, 2018).

As usinas obtêm renda adicional dos subprodutos gerados na produção de etanol a partir do óleo bruto e dos grãos de destilaria, que possuem alto valor agregado (ROSSETO et al., 2017). O rendimento médio é 380 kg de grão de destilaria seco para cada tonelada de milho (LEITE, 2018).

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 – Biomassa

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados 3 híbridos comerciais (BRS330, BRS373 e 1G100) e 2 híbridos experimentais do Programa de Melhoramento Genético de sorgo da Embrapa (1167052 e 1167092). (Figura 4.1). A biomassa foi obtida da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) do Estado de Minas Gerais, Brasil. A cultura foi coletada no primeiro semestre de 2017 e armazenada em ambiente seco.

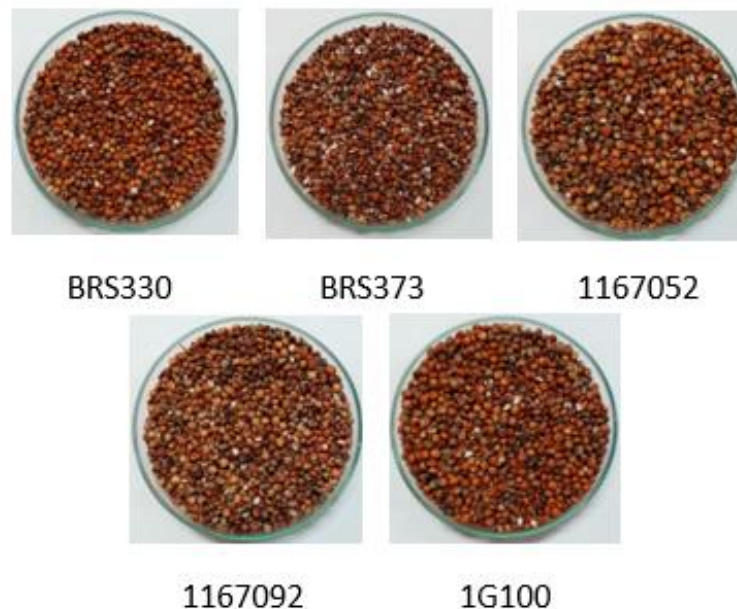


Figura 4.1 - Grãos de sorgo granífero (Fonte: o próprio autor)

4.2 - Moagem

Os grãos foram submetidos ao processo de moagem para hidrólise e fermentação. A biomassa foi moída cerca de 5 vezes utilizando um moinho simples de disco para cereais. Após a moagem os grãos foram peneirados empregando peneiras de até 9 *mesh*. As partículas obtidas apresentaram características de diâmetros inferiores a 2 mm.

4.3 - Caracterização do grão

Foram feitas as seguintes determinações químicas: teor de amido, umidade/ teor de água, teor de óleo, celulose, hemicelulose A e hemicelulose B.

O teor de amido foi descrito como a quantidade de glicose total por cromatografia a líquido de alto desempenho (HPLC), do inglês (*High Performance Liquid Chromatography*). A quantificação do teor de óleo foi através do método de extração com o soxhlet de 20g de sorgo utilizando o solvente n-hexano, o experimento foi realizado durante 4 h. O óleo extraído foi determinada a partir da diferença da medida de massa do balão inicial pelo final.

Nos ensaios foram utilizados o método usado por Zhang (2010), sendo que 0,03 g de grãos foram hidrolisados com 2,6 mL de $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ 1,2 M em banho-maria em ebulição por 2 h. Em seguida, ajustando o pH a 7,0 com $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ 1M, acetato de chumbo foi adicionado para precipitar a proteína e diluindo a solução com água deionizada até um volume final de 10 mL. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas para remoção da proteína, diluídas (10 vezes) com água ultrapura, filtrada por meio de uma membrana (tamanho de poro 0,22 μm , 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 min^{-1} , temperatura do forno de 80°C e volume de injeção de 20 μL . Todos os ensaios de caracterização do caldo foram conduzidos em triplicata. O teor de amido foi determinado usando o teor total de açúcar (teor de amido = teor de glicose x 0,909).

A umidade foi determinada pelo teor de água de cada variedade de sorgo, utilizando o método gravimétrico (AOAC, 2007).

Já a quantificação de celulose foi isolada por uma solução alcalina seguindo o método YADAV et al., (2007 a-d), onde se teve primeiramente a extração do óleo de 5g de sorgo utilizando o soxhlet durante 3 h com o solvente n-hexano e após essa etapa o sorgo foi suspenso em água com agitação mecânica (85°C por 1 h). Durante a reação, a suspensão foi mantida em pH 11,5, adicionando $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ a 50% (m/v), conforme necessário. Depois de esfriar a mistura reacional quente, foi centrifugada a 6000 rpm

durante 20 min e o sobrenadante foi separado do resíduo. O resíduo obtido foi extraído mais duas vezes.

O pH do extrato alcalino (sobrenadante das três centrifugações) foi ajustado para o pH de 4,0-4,5 por adição de HCl concentrado. A hemicelulose A ("Hemi. A") foi coletada por centrifugação a 10.000 rpm por 30 min e seca em estufa a vácuo a 50 °C até a massa estabilizar. Dois volumes de etanol foram gradualmente adicionados ao sobrenadante com agitação para precipitar a fração principal de hemicelulose B (Hemi B). A Hemi B formou um precipitado floculento branco no fundo do erlenmeyer e foi deixado durante a noite em repouso até total decantação.

O precipitado floculento branco foi transferido para outro recipiente, agitado em etanol puro e filtrado sob vácuo. A Hemi B obtida no funil de Buchner foi lavada com etanol a 100% e seca em estufa a vácuo a 50 °C durante a noite e medida a massa. O resíduo insolúvel deixado após a extração alcalina foi suspenso em água, o pH ajustado para 5,5-6,0 e agitado por cerca de 15 min. O resíduo não solubilizado foi coletado por filtração a vácuo, lavado com etanol a 100% e seco em estufa a vácuo e medida a massa. Esse resíduo insolúvel em água final foi chamado fração rica em celulose.

4.4 - Microrganismos e enzima

O processo de fermentação foi conduzido utilizando a cepa de levedura *Saccharomyces cerevisiae* Y904 obtida da AB Brasil (Pederneiras/SP). O processo de fermentação enzimática foi realizado utilizando amiloglucosidase (AMG 300 L *Novozymes*) adquirida pela empresa Empório Lúpulo (Araucária/PR).

4.5 - Hidrólise e fermentação

Na produção de etanol foi utilizado 10% (m v⁻¹) de sorgo moído conforme item 4.2. A fermentação foi realizada em um reator cônico descontínuo com volume de 250 mL a 25 °C e 120 rpm em uma mesa agitadora, usando *Saccharomyces cerevisiae* Y904

a concentração de 30 g L⁻¹ em hidrólise e fermentação separadas e fermentação e sacarificação simultâneas (Figura 4.3).

A fermentação e sacarificação simultâneas foi avaliada no processo enzimático realizado com AMG 300L e com a gelatinização do amido (cozido a 100 °C por 1 h) e no meio fermentado com o pH 5,2 (tampão acetato – ácido acético 0,2 M e acetato de sódio 0,2 M), com dois tempos de fermentação sendo 80 e 100h.

O processo de hidrólise e fermentação separada foi avaliado utilizando o ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido clorídrico (HCl) e ácido fosfórico (H₃PO₄) com 25 e 50 min de hidrólise a 120 °C (Figura 4.3). Após a hidrólise foi realizada a neutralização do hidrolisado com carbonato de cálcio (CaCO₃) até o pH atingir aproximadamente 4,5 ± 0,2. Posteriormente centrifugou-se a o meio fermentativo a 7000 rpm por 20 minutos para remover o sólido e o sobrenadante da centrífuga usados no processo de fermentação de 72h. Na Tabela 4.1 e na Figura 4.4 estão descritos os dois processos estudados.

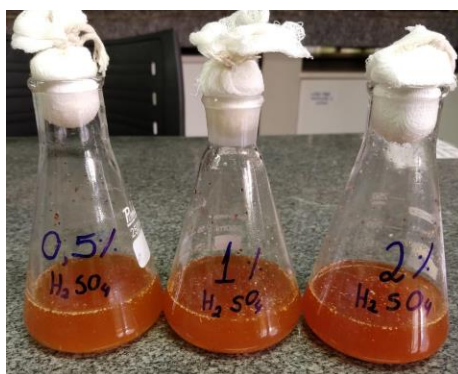


Figura 4.2 - Hidrólise ácida em diferentes concentrações (Fonte: o próprio autor)



Figura 4.3 - Processo de hidrólise e fermentação separadas (Fonte: o próprio autor)

Tabela 4.1 - Condições de hidrólise ácida e enzimática realizadas em grãos de sorgo

Ácido	Ácido (%)	Enzima ^a (Ug ⁻¹)	Tempo de hidrólise ^b (min)	Tempo de fermentação (h)
HCl	0,5	-	25 e 50	72
HCl	1	-	25 e 50	72
HCl	2	-	25 e 50	72
H ₂ SO ₄	0,5	-	25 e 50	72
H ₂ SO ₄	1	-	25 e 50	72
H ₂ SO ₄	2	-	25 e 50	72
H ₃ PO ₄	0,5	-	25 e 50	72
H ₃ PO ₄	1	-	25 e 50	72
H ₃ PO ₄	2	-	25 e 50	72
-	-	1,5	80 e 100	80 e 100
-	-	0,75	80 e 100	80 e 100
-	-	0,15	80 e 100	80 e 100

Nota: ^a massa / massa

^b hidrólise simultaneamente com a fermentação no processo enzimático

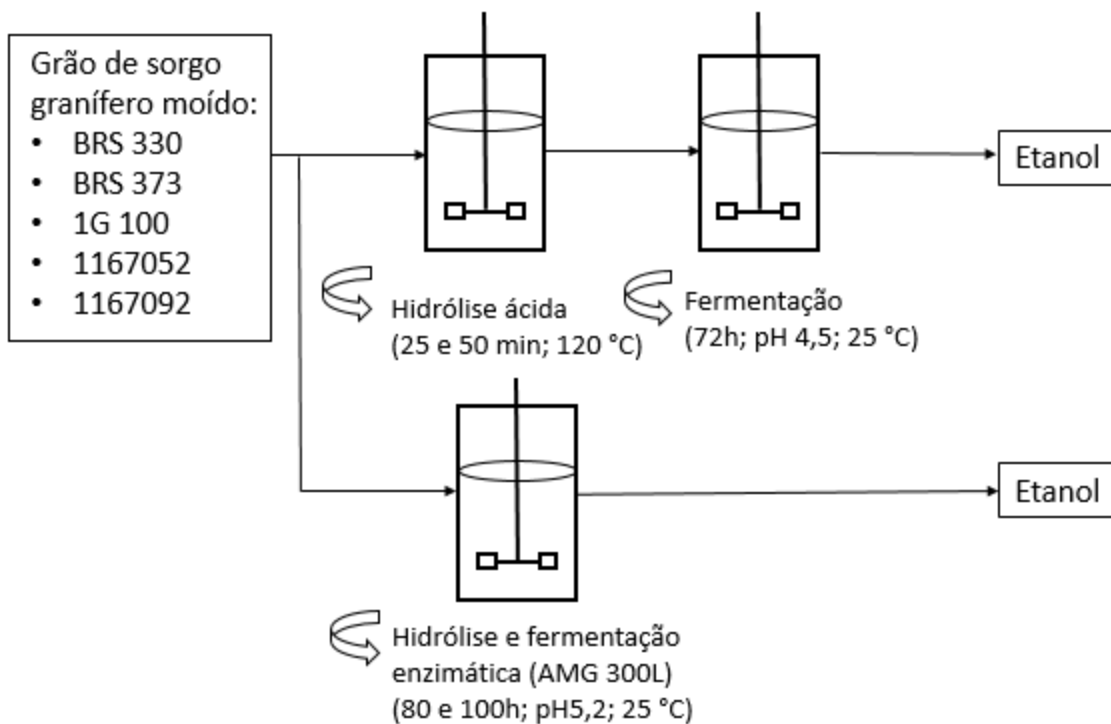


Figura 4.4 – Fluxograma do processo de produção de etanol (Fonte: o próprio autor)

4.6 - Dosagem de açúcar e etanol

O etanol e os açúcares totais foram quantificados usando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-Shimadzu LC-20A Prominence) com a coluna SUPELCOGEL CA, água deionizada como fase móvel, vazão de 0,5 mL/min, temperatura do forno a 80 °C e volume de injeção de 20 mL. As concentrações de etanol e açúcar foram determinadas a partir das curvas de calibração geradas pelo equipamento e a concentração total de açúcar (TSC) foi calculada com a soma das concentrações de glicose e maltose.

4.6.1 - Quantificação de açúcar e etanol

A partir das concentrações (g L^{-1}) de açúcares e etanol determinadas foi possível descrever os resultados em massa de açúcar ou etanol por massa de grão de sorgo, de acordo com as Equações 1 e 2:

$$(\text{açúcar (kg)}) / (\text{grão base seca (100kg)}) = \frac{(C_a \times v)}{m} \quad (1)$$

$$(\text{etanol (L)}) / (\text{grãos base seca (100 kg)}) = \frac{(C_e \times v)}{\rho \times m} \quad (2)$$

Em que C_a é a concentração de açúcares (g L^{-1}), v é o volume de fermentação (L), C_e é a concentração de etanol (g L^{-1}), ρ é a densidade de etanol (789 kg m^{-3} a 20°C) e m é a massa de grãos de sorgo em 100 kg em base seca.

4.6.2 – Rendimento prático e teórico

Os resultados foram expressos em rendimento prático (Y_p) pela Equação 3. Foi possível também calcular dois rendimentos teóricos (Y_{ts} e Y_{th}), em relação ao amido presente na biomassa determinada pela caracterização do grão e ao açúcar hidrolisado, de acordo com as Equações 4 e 5, respectivamente:

$$Y_p (\%) = \frac{\text{etanol (kg)}}{\text{amido (kg)}} \times 100 \quad (3)$$

$$Y_{ts} (\%) = \frac{C_{am} \times 180}{162} \times 0,51 \quad (4)$$

$$Y_{th} (\%) = C_{gli} \times 0,51 + C_{mal} \times 0,53 \quad (5)$$

Sendo Y_p o rendimento prático, Y_{ts} o rendimento teórico em relação ao amido, Y_{th} o rendimento teórico do hidrolisado, C_{am} a concentração de amido ($\text{kg}/100 \text{ kg}$ de grão), C_{gli} a concentração de glicose ($\text{kg}/100 \text{ kg}$ de grão) e C_{mal} a concentração de maltose ($\text{kg}/100 \text{ kg}$ de grão).

4.6.3 – Eficiência da fermentação alcoólica

As eficiências das fermentações alcoólicas pelos processos de hidrólise e fermentação separadas (η_a) e fermentação e sacarificação simultâneas (η_e) foram determinadas pelas Equações 6 e 7, respectivamente:

$$\eta_a (\%) = \frac{\text{etanol (kg)}}{Y_{th}} \times 100 \quad (6)$$

$$\eta_e (\%) = \frac{\text{etanol (kg)}}{Y_{ts}} \times 100 \quad (7)$$

4.7 - Recuperação de biomassa

No processo de hidrólise e fermentação separadas foi avaliado o resíduo sólido após a hidrólise ácida de todas as variedades de sorgo, sendo a biomassa recuperada. O hidrolisado foi centrifugado a 7000 rpm por 15 min, separando a parte sólida, lavado com água destilada e filtrado para posteriormente secagem na estufa a 37 °C durante 24 h. Já no processo de fermentação e sacarificação simultâneas a recuperação foi obtida ao final da fermentação. Assim, o fermentado foi centrifugado e o resíduo sólido foi lavado nas mesmas condições anteriores e seco, ambos foram utilizados o mesmo método e pesados (AOAC, 2007).

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – Análise da caracterização

Para o estudo de caracterização das biomassas foi quantificado os teores de amido, óleo, umidade, celulose, hemicelulose A e hemicelulose B. Os teores de amido encontrados no presente trabalho apresentaram valores de 33,87 a 27,35 (g/100g de sorgo). Silva e colaboradores (2018) encontraram 26,38% de amido para o grão de sorgo granífero realizando o método de extração de amido, valor este, menor do que encontrado no presente trabalho. Através dos resultados apresentados na Tabela 5.1, pode-se observar que os diferentes híbridos estudados possuem composições semelhantes em termos de umidade e amido. Já os teores de celulose (hemicelulose A e hemicelulose B) mostraram variações para cada tipo de sorgo, pois o genótipo de cada sorgo é diferente. Pode-se observar que o teor de óleo do sorgo BRS330 se destacou em relação aos outros sorgos estudados que tiveram resultados similares.

Tabela 5.1 - Caracterização da biomassa (g/100g de sorgo)

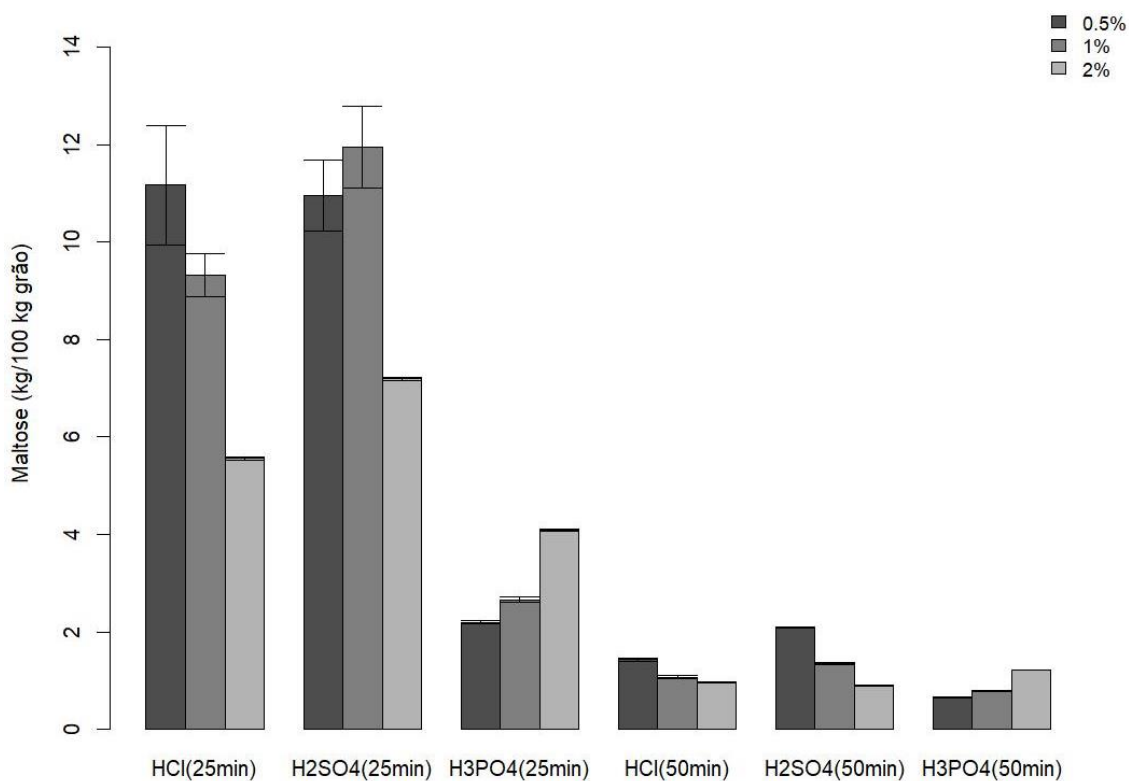
Sorgo	BRS 330	BRS373	1G100	1167052	1167092
Óleo	4,96	2,81	3,10	2,73	3,31
Amido	33,78	30,38	33,87	27,35	30,63
Umidade	10,83	10,12	10,25	10,62	10,52
Celulose	27,36	23,34	26,49	37,81	38,52
Hemicelulose A	35,16	48,97	12,13	16,69	37,30
Hemicelulose B	5,93	6,45	4,48	16,78	5,24

5.2- Condições ácidas de hidrólise

A Figura 5.1 mostra a avaliação da produção de açúcar (maltose (A) e glicose(B)) dos grãos de sorgo 1G100 associada à etapa de hidrólise usando ácido sulfúrico, ácido clorídrico e ácido fosfórico. Observa-se que dentre os ácidos estudados, o que menos favoreceu o processo de hidrólise foi o ácido fosfórico que resultou em 6,27 kg de açúcar/100 kg de grão a 2% em 25 min e 15,09 kg de açúcar/100 kg de grão em 50 min. Em relação ao ácido clorídrico a 1%, a produção de etanol foi 65,08 kg de açúcar/100 kg de grão de sorgo (25 min), com um aumento de aproximadamente 90% em relação a produção de etanol obtida utilizando ácido fosfórico.

Ao avaliar a produção de açúcares na hidrólise com ácido sulfúrico, observou-se que para o tempo de 50 min foi obtido 48,84 kg de açúcar/100 kg de grão com uma produção de glicose de aproximadamente 43 kg de glicose/100 kg de grão. Para o tempo de 25 min, foi obtido 40,5 kg de açúcar/100 kg de grão com uma produção de 28 kg de glicose/100 kg de grão. Foi possível notar que o tempo de 50 min favoreceu a produção de açúcares como a glicose.

A)



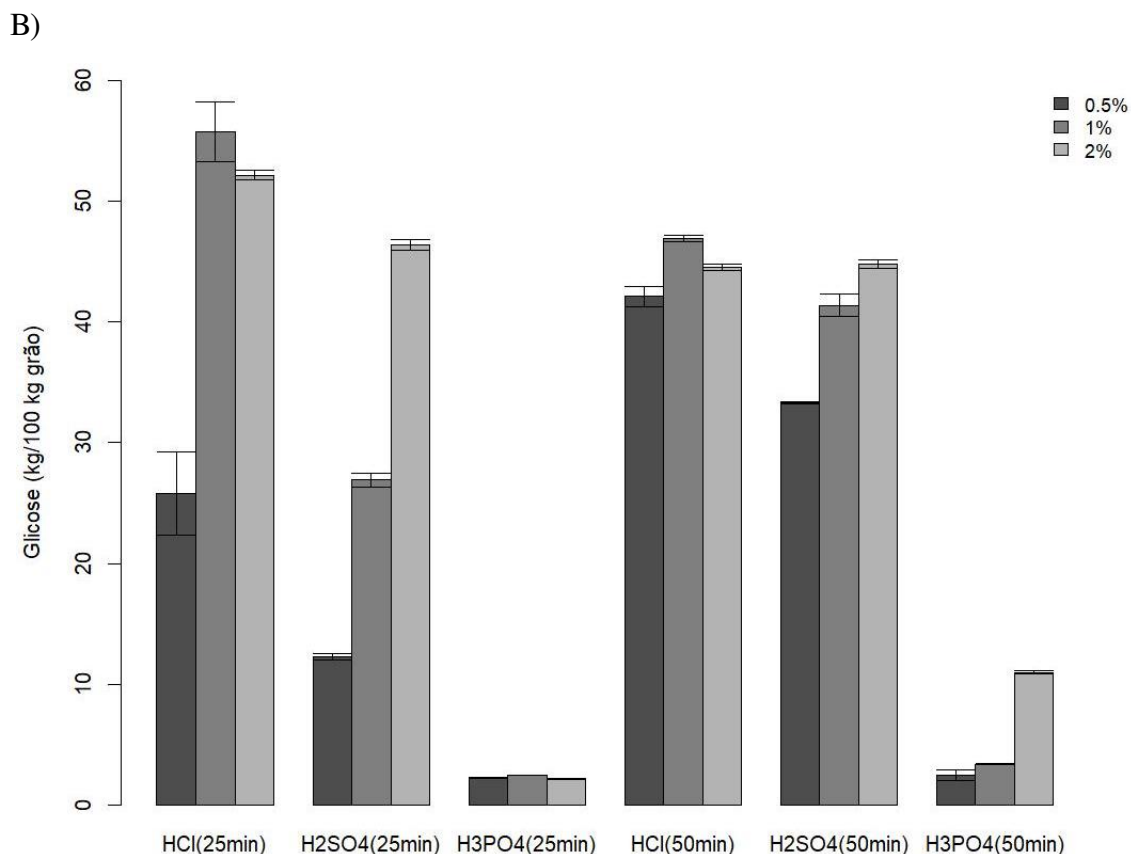


Figura 5.1 - Produção de maltose (A) e glicose (B) (kg/100 kg de grão) no processo de hidrólise ácida do sorgo 1G100 (a 120 ° C, 25 e 50 min)

Ananda e colaboradores (2011) estudaram os efeitos do estresse hídrico e da seca sobre o teor de glicose e a produção de etanol de grãos de sorgo. No seu trabalho utilizando enzimas α -amilase e β -glucamilase com hidrólise por 75 min (84 °C) e 2h (30 °C), respectivamente, obtiveram 61,49 kg de açúcar/100 kg de grão. Verificou-se que no presente trabalho, foi obtido resultados compatíveis com a literatura (65,08 kg de açúcar/100 kg de grão para a hidrólise utilizando HCl) com um aumento de aproximadamente 5% em relação ao encontrado por Ananda e colaboradores (2011).

A Figura 5.2 dispõe os dados com relação ao uso de ácidos (HCl, H₂SO₄ e H₃PO₄) na hidrólise e posterior produção de etanol. Observou-se que o ácido clorídrico favoreceu a produção de etanol atingindo 33,86 L de etanol/100 kg de grão em 50 min de hidrólise. Já o ácido sulfúrico apresentou uma produção de etanol de 29,65 kg de etanol/100 kg de grão em 50 min de hidrólise, apresentando uma redução de aproximadamente 12% em relação ao ácido clorídrico.

Embora o uso de ácido clorídrico seja promissor e tenha apresentado melhores resultados, a utilização do ácido sulfúrico é mais comum na literatura em pesquisas de hidrólise ácida diluída para diversas biomassas como a palha de sorgo doce (VÁZQUEZ et al., 2007, HERRARA et al., 2002). Os trabalhos desenvolvidos por Vancov e MCintosh, 2012 e Mehmood et al., 2009, demonstraram que a hidrólise com ácido clorídrico resultou na redução do tempo de reação, mas a maior produção de açúcar foi obtida com o ácido sulfúrico.

O ácido sulfúrico é usado na etapa de pré-tratamento da biomassa, ou seja, no processo de hidrólise do grão de sorgo, para destruir estruturas como a lignina e celulose. Isso justifica a importância da etapa da hidrólise ácida no processo de tratamento de biomassas compostas por lignina e celulose (BEHERA et al., 2014; MENON e RAO, 2012). O ácido sulfúrico também apresenta vantagens nos processos por ser menos corrosivo e de menor custo, portanto, a condição escolhida para otimizar a produção de etanol foi a 1% de ácido sulfúrico em 50 minutos de hidrólise (BANERJI, BALAKRISHNAN, KISHORE, 2013).

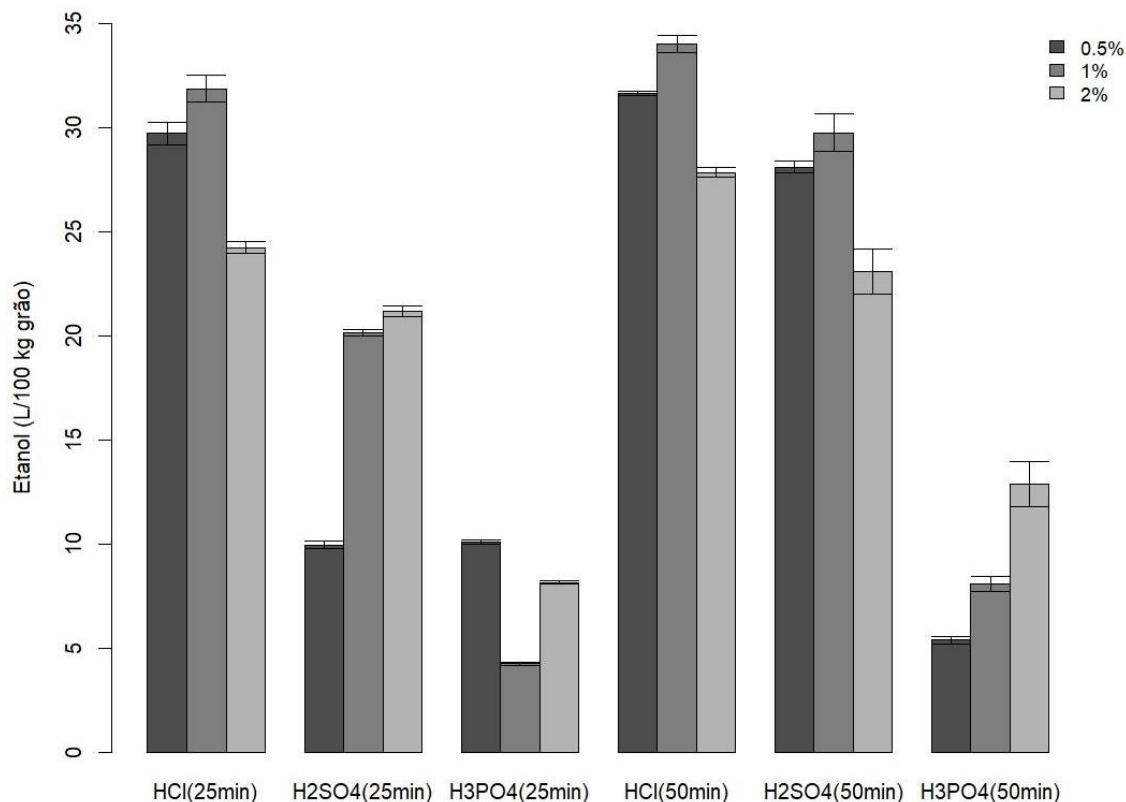


Figura 5.2 - Produção de etanol no processo de hidrólise e fermentação separadas com diferentes tempos de hidrólise do sorgo 1G100 (25 °C; pH 4,5; 72 h)

5.3 - Produção de etanol com a etapa de hidrólise ácida

A Figura 5.3 apresenta os resultados de açúcares (glicose, maltose, celobiose e frutose) obtidos no processo de hidrólise ácida com 1% de H₂SO₄ e 50 minutos de processo. Pôde-se observar que as quantidades de glicose foram similares para as diferentes espécies de grão de sorgo.

O tipo 1167052 atingiu a maior concentração de glicose, com um valor de 47,28 kg/100 kg de grão, sendo 6,6% a mais em relação ao híbrido 1167092 que produziu a menor quantidade de açúcares. Já os açúcares maltose, celobiose e frutose foram produzidos em proporções menores e iguais, resultados em valores abaixo de 5kg/100 kg grão de sorgo.

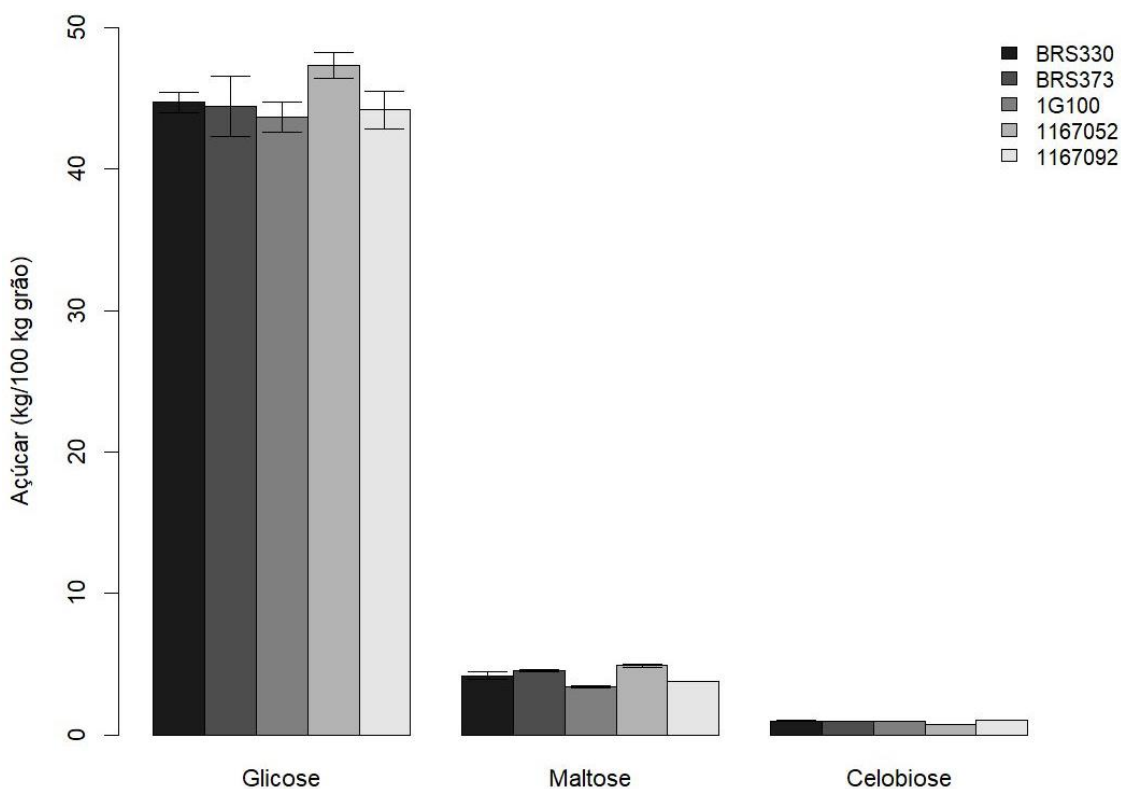


Figura 5.3 - Produção de açúcares (kg/100 kg grão) após a hidrólise ácida com ácido sulfúrico (50 min, 120°C ± 1°C)

Nota: O açúcar redutor frutose foi detectado em quantidades baixas (menores que 1 kg/100 kg grão de sorgo)

A Figura 5.4 apresenta os resultados de produção de glicerol e etanol na fermentação nas condições de 1% de H₂SO₄ e 50 min de hidrólise. Nesse processo, a produção atingiu 28,23 L de etanol/100 kg de grão para o híbrido 1G100, sendo 11,51% a mais que os tipos 1167052 e 1167092.

O glicerol apresentou dois tipos de comportamento, para o híbrido BRS330 cerca de 23,70 kg de glicerol/100kg de grão, BRS373 apresentou valores próximos ao BRS 330. Os demais grãos de sorgo 1G100, 1167052 E 1167092 mostraram comportamentos semelhantes produzindo em torno de 12,41 kg de glicerol/100 kg de grão, uma redução de 47,63% em relação a maior produção de glicerol.

Na literatura Szambelan (2018a) obteve valores semelhantes para a produção de etanol, aproximadamente 29,79 L/ 100 kg grão para o grão de sorgo cultivado na Polônia do tipo GK J-018 utilizando o método de sacarificação simultânea e fermentação juntamente com a aplicação de um novo tipo de enzima, StargenTM 001, que pode hidrolisar granulados ou amido não cozido a açúcares fermentáveis (BIALAS, SZYMANOWSKA e GRAJEK, 2010; NIKOLIĆ et al., 2012). Dessa forma, verificou-se que os resultados encontrados no processo de hidrólise do presente trabalho foram compatíveis com a literatura.

A Tabela 5.2 apresenta os resultados de rendimento prático e eficiência de todas as variedades de sorgo estudadas. Os híbridos que apresentaram melhores resultados foram os BRS373 e 1G100 com eficiências de 94,41 e 100%, respectivamente. Comparando a eficiência com outra biomassa rica em amido, o milho, por exemplo.

Szambelan et al. (2018b) concluíram que o melhor resultado de eficiência da fermentação alcoólica foi 77,51% com de produção de etanol 33,77 L/100kg de grão, apesar que a produção de etanol ainda pode ser melhorada com a otimização das condições operacionais. Na presente avaliação, a eficiência atingiu aproximadamente 20% a mais que o de Szambelan et al., (2018b) para o sorgo 1G100.

Outro aspecto que beneficia o uso de sorgo na produção de etanol é a possibilidade de reutilizar a biomassa, pois essa não perde o valor nutricional (proteína, lipídeos e minerais). Dessa forma, foi avaliada a recuperação da biomassa neste trabalho com os resultados demonstrados na Tabela 5.2.

Os resultados da recuperação da biomassa atingiram 28,73% (g/100 g de grão de sorgo) para a espécie 1160752 e 27,81% (g/100 g de grão de sorgo) para sorgo 1G100.

A relação entre a eficiência da fermentação alcoólica e a recuperação não é diretamente proporcional, pois, não necessariamente as melhores recuperações foram obtidas para a maiores produções de etanol. Vale ressaltar que a biomassa recuperada pode agregar valor nos processos industriais, uma vez que, é utilizada na produção de ração animal (MCCUISTION et al., 2019).

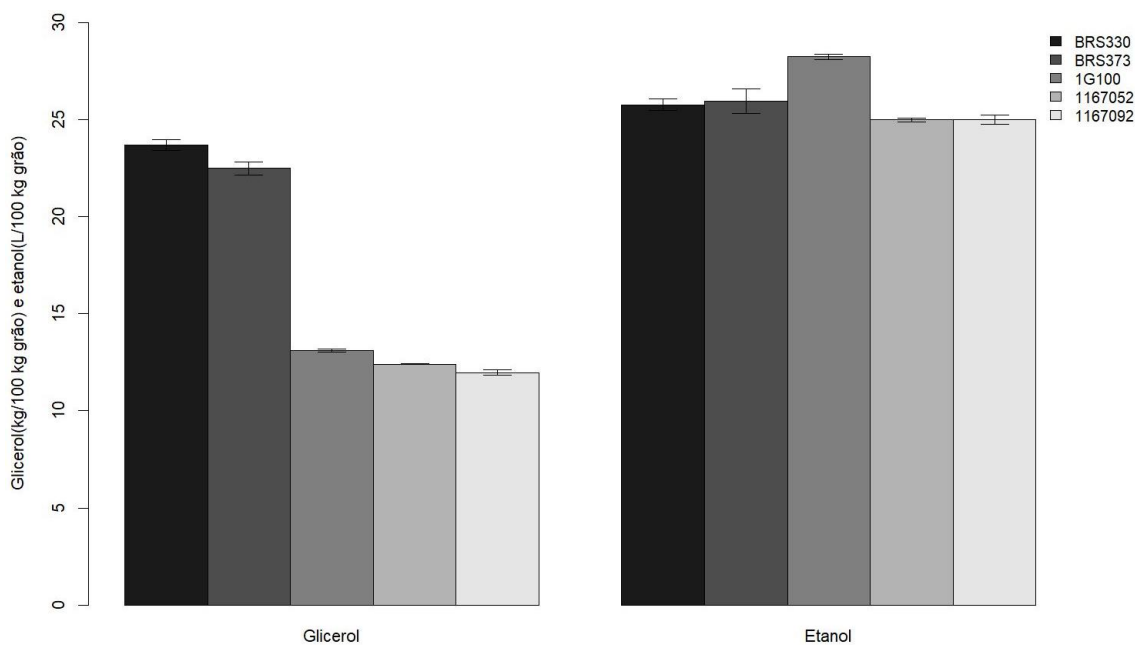


Figura 5.4 - Produção de glicerol (kg/ 100kg grãos de sorgo) e etanol (L/ 100kg grãos de sorgo) na fermentação (72h, 25°C)

Tabela 5.2 – Rendimento prático/ eficiência da hidrólise ácida com ácido sulfúrico e fermentação (g/100g de sorgo)

Sorgo	Rendimento Prático (%)	Rendimento teórico amido ^a (%)	Rendimento teórico hidrolisado (%)	Eficiência (%)	Biomassa Recuperada (%)
BRS330	76,25	21,47	26,18	98,39	23,21
BRS373	85,39	19,15	27,48	94,41	28,56
1G100	83,34	21,38	25,37	100,00	27,81
1160752	91,33	19,75	27,78	89,93	28,63
1160792	81,58	19,40	25,78	96,93	25,62

Nota: ^a base seca de amido

5.4 - Efeito da concentração de enzima e tempo de fermentação

Na produção de etanol, foi avaliada também o processo de hidrólise enzimática utilizando a enzima AMG300L. Dessa forma, a concentração enzimática e o tempo de fermentação foram avaliados utilizando o sorgo 1G100. A Figura 5.5 estão apresentados os resultados da concentração de glicerol produzido nas condições estudadas. Pôde-se observar que não houve relação direta entre a quantidade de glicerol e etanol nas diferentes condições avaliadas.

Para avaliar a melhor condição do processo utilizando a enzima AMG 300L foi escolhido o ensaio em que a produção de etanol alcançou o maior valor de 24,29 L/100 kg de grão (100h e 1,5 U/g). Na Figura 5.6, pode-se observar que em 80 horas, a produção de etanol foi 29,83% melhor com a concentração de 1,5 U/g de enzima em relação a concentração 0,75 U/g e 39,67% em relação a menor concentração de enzima 0,15 U/g..

Além disso, a produção de etanol mostrou um comportamento decrescente de acordo com a quantidade de enzima adicionada. Em 100 h de fermentação, a concentração de etanol teve o maior valor na mesma concentração de enzima que 80h e 7,75% a mais nesse tempo, cerca de 24,89 L/100kg de grão para etanol. As condições avaliadas de enzima 1,5 e 0,75 U/g obtiveram bons resultados em 100 h de fermentação, de modo que a condição escolhida para continuar o estudo foi de 1,5 U/g em 100 h de fermentação a 25 °C.

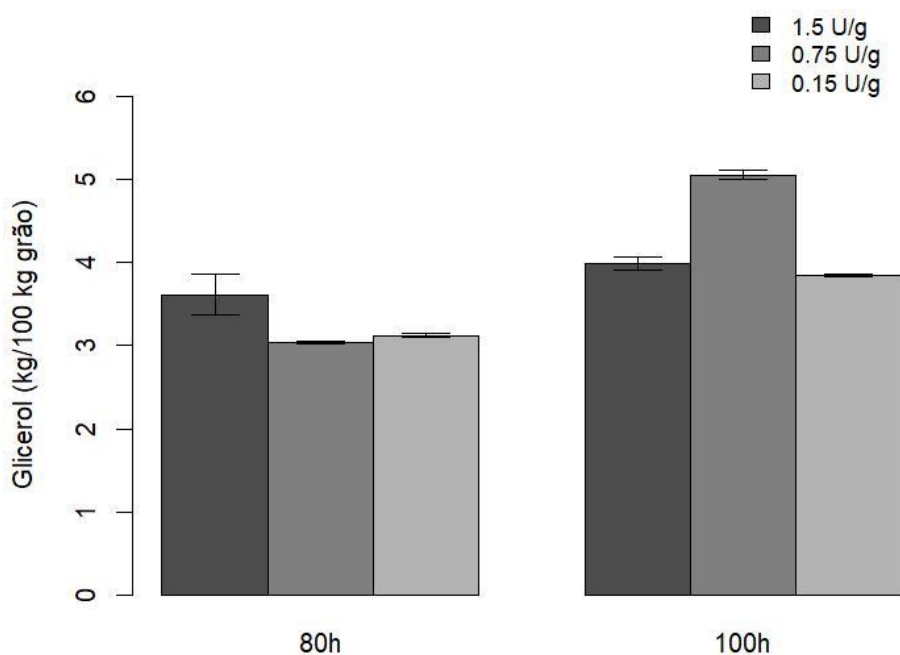


Figura 5.5 - Produção de glicerol (kg/100kg grão) produzido na fermentação enzimática

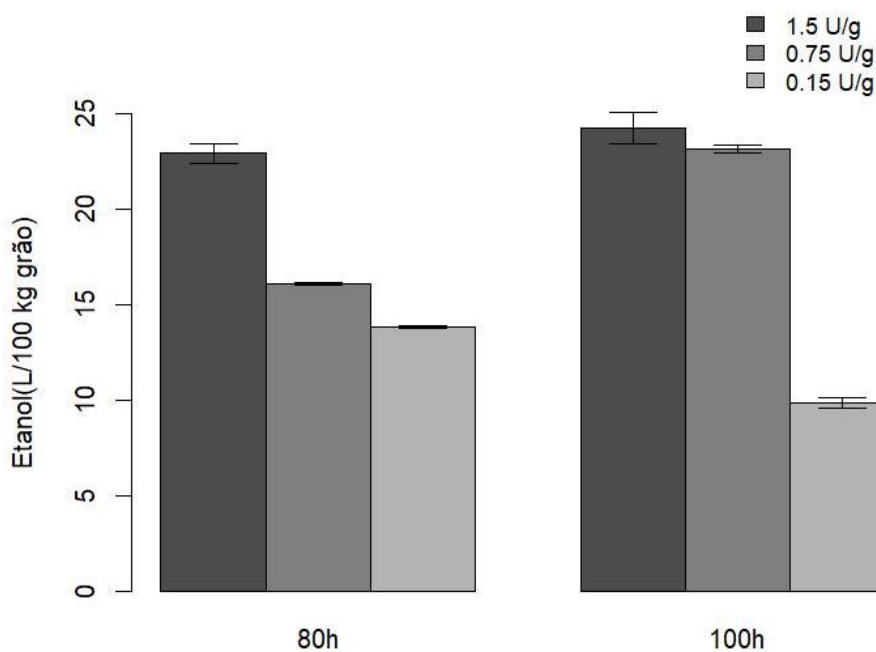


Figura 5.6 - Produção de etanol (L/100kg de grão) produzido na fermentação enzimática

5.5 - Produção de etanol na melhor condição da enzima

A próxima etapa deste trabalho foi avaliar as condições ideais do processo de fermentação enzimática para todos os tipos de grãos de sorgo. A Figura 5.7 mostra que a quantidade de glicerol produzido foi de 7,78 kg/100 kg de grão para o sorgo BRS373, resultado inferior ao encontrado no processo de hidrólise ácida e fermentação. A produção de etanol atingiu valores de aproximadamente 28 L/100kg de grão para o sorgos BRS373 e 1167052 no processo de fermentação de 100 h.

Esses resultados encontrados foram compatíveis com o processo de hidrólise ácida e fermentação em 72 h do presente trabalho. Szambelan e colaboradores (2018a), produziu etanol com o processo de hidrólise utilizando a enzima Termamyl SC DS em 20 min de hidrólise e 72 h de fermentação obtendo 25,43 (L /100kg de grão). Esses dados encontrados na literatura, demonstraram um valor de aproximadamente 12 % abaixo ao comparar com os resultados obtidos neste trabalho.

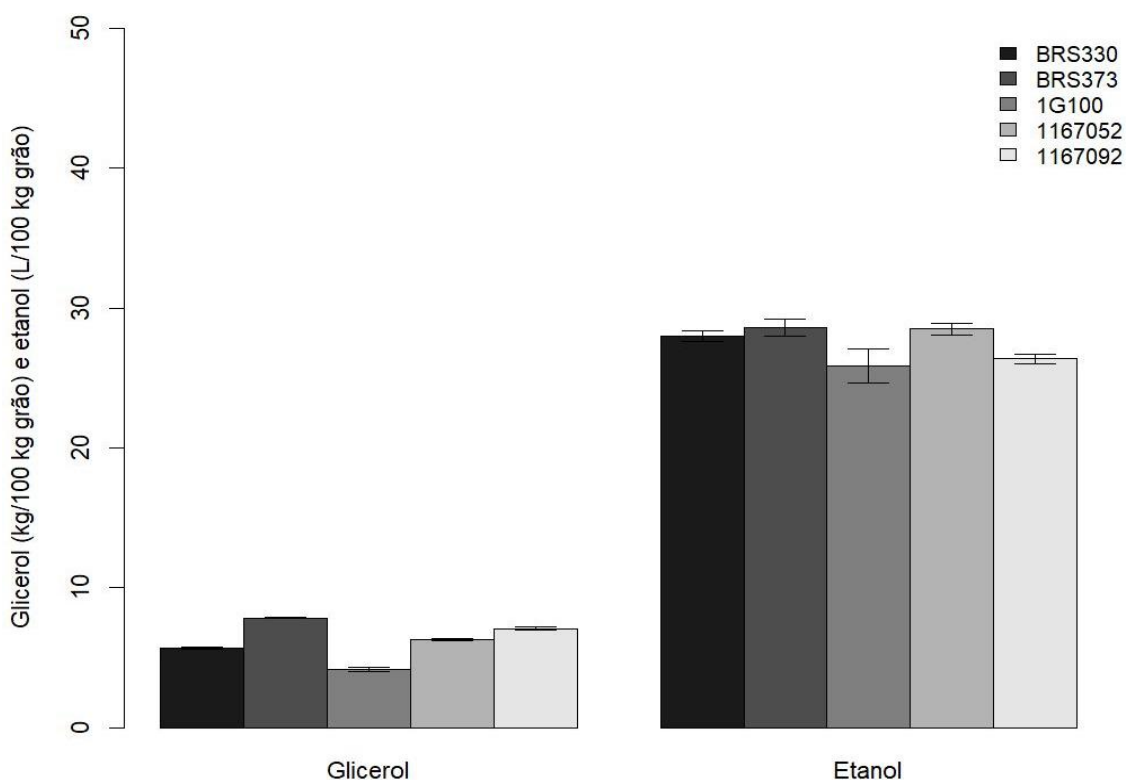


Figura 5.7 - Produção de glicerol(kg/100kg grão de sorgo) e etanol (L/100kg grão de sorgo) na fermentação (100h, 25°C)

A Tabela 5.3 apresenta os resultados de rendimento prático e eficiência de todas as variedades de grão estudados. O híbrido que apresentou o melhor resultado foi 1167052 com 99,18% de eficiência, um aumento de aproximadamente 1,5% na eficiência da fermentação alcoólica em relação à hidrólise ácida e fermentação.

Foi possível observar que a recuperação de biomassa no processo de fermentação e sacarificação simultâneas foi mais satisfatória apresentando 36,65% para o sorgo BRS330, que no processo de hidrólise e fermentação separadas.

Do ponto de vista do uso de coprodutos, a condição enzimática alcançou 13,68% a mais de recuperação para o sorgo 1G100 que se destacou no processo de hidrólise ácida. Além disso, o processo enzimático apresentou recuperações maiores em todos os sorgos devido ao seu processo ter condições de reação menos agressivas do que o processo usando ácido, que podem degradar a biomassa (MOSHI et al., 2015; TASIĆ et al., 2009).

Tabela 5.3 – Rendimento prático/eficiência da fermentação enzimática(g/100g de sorgo)

Sorgo	Rendimento Prático (%)	Rendimento teórico amido ^a (%)	Rendimento teórico hidrolisado (%)	Eficiência (%)	Biomassa Recuperada (%)
BRS330	82,79	21,47	26,18	97,07	36,65
BRS373	94,12	19,15	27,48	98,79	32,49
1G100	76,40	21,38	25,37	93,29	32,22
1160752	100,00	19,75	27,78	99,13	35,59
1160792	86,11	19,40	25,78	100,00	29,50

Nota: ^a base seca de amido

6 – CONCLUSÃO

6.1 - Conclusão

Diante dos resultados obtidos neste trabalho foi possível verificar as seguintes conclusões:

- Os grãos de sorgo granífero mostrou ter um grande potencial como biomassa para a produção de etanol;
- O grão de sorgo granífero possui teores elevados de amido (33,87 a 27,35% g/100g de sorgo);
- Todas as variedades de sorgo estudadas mostraram-se capazes de produzir etanol, sendo que o híbrido 1G100 no processo hidrólise ácida e fermentação separados produziu 28,23 L/100kg grão;
- No processo de fermentação enzimática a produção de etanol se destacou para o sorgo BRS373 e 1167052 com resultados de 28,59 e 28,51 L/100 kg grão, respectivamente;
- A produção de etanol em ambos os processos foram similares;
- A recuperação de biomassa na fermentação enzimática (36,65% para sorgo BRS330) foi maior em relação a hidrólise ácida.

6.2 - Sugestões para trabalhos futuros

As sugestões para trabalhos futuros são:

- Caracterizar físico-química de forma mais detalhada dos grãos;
- Realizar a extração de óleo após a hidrólise ácida e a fermentação enzimática;
- Avaliar a utilização do ácido clorídrico na hidrólise ácida para as variedades de sorgo;
- Verificar economicamente a utilização da enzima na hidrólise enzimática do sorgo.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOUSEKKEN, M. S. M. Use of corn distillers dried grains with solubles (ddgs) in laying quail diets, *Egyptian Poultry Science Journal*, v. 34(3), p.681-703, 2014. <https://doi.org/10.21608/epsj.2014.5364>

ABUBACKAR, H. N., BENGELSDORF, F. R., DÜRRE, P., VEIGA, M. C., KENNES, C. Improved operating strategy for continuous fermentation of carbon monoxide to fuelethanol by Clostridia. *Appl Energy*, v.7, p.169-210, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.02.021>

ANOP. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (Brasil). Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis: 2019 / Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, Rio de Janeiro: ANP, 2008.

AGRILIFE - Grain sorghum awaits the combine near San Angelo, Texas, agosto, 2010. Disponível em: <<http://www.flickr.com/photos/agrilifetoday/4973932567/in/gallery-51845610@N02-72157625368510317/>>. Acesso em: 08 jan. 2020>.

ANANDA, N., VADLANI, P. V., PRASAD, P. V. V. . Evaluation of drought and heat stressed grain sorghum (*Sorghum bicolor*) for ethanol production. *Industrial Crops and Products*, v. 33(3), p. 779-782, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.01.007>

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed. Current through Revision 2, Washington (DC): AOAC International, 2007.

BAILEY, J. E. E OLLIS, D. F. Biochemical Engineering Fundamentals. 2 ed. New York, McGraw-Hill, 1986.

BARCELOS, C.A. Aproveitamento das frações sacarínea, amilácea e lignocelulósica do sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) para a produção de bioetanol. 334 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, pg 98. Rio de Janeiro, 2012.

BALAT, M., BALAT, H. Recent trends in global production and utilization of bioethanol fuel. *Applied Energy*, v.86, p. 2273-2282, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.03.015>

BANERJI, A., BALAKRISHNAN, M., KISHORE, V.V.N. Low severity dilute-acid hydrolysis of sweet sorghum bagasse. *Applied Energy*, v. 104, p. 197-206, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.11.012>

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

BAYSAL, Z., UYAR, F., DOGRU, M., ALKAN, H. Production of extracellular alkaline α - amylase by solid state fermentation with a newly isolated *Bacillus* sp. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, v.38, n.2, p.184-190, 2008. <https://doi.org/10.1080/10826060701885167>

BEHERA S., ARORA R., NANDHAGOPAL N., KUMAR S. Importance of chemical pretreatment of bioconversion of lignocellulosic biomass, *Renew, Sustain, Energy Rev*, v. 36, p. 91-106, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.047>

BERTOFT, E., BLENNOW, A. Structure of Potato Starch, In: SINGH, Jaspreet; KAUR, Lovedeep (Ed.), *Advances in Potato Chemistry and Technology*. New York: Elsevier, cap.4, p. 83-94, 2009. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374349-7.00004-0>

BIALAS, W., SZYMANOWSKA, D., GRAJEK, W. Fuel ethanol production from granular corn starch using *Saccharomyces cerevisiae* in a long term repeated SSF process

with full stillage recycling. *Bioresour and Technol*, v. 101, p. 3126-3131, 2010.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.090>

BOBBIO, P. A., BOBBIO, F. O. *Química do processamento de alimentos: Enzimas*, 3,ed, São Paulo: Varela, p.143-167, 2001.

BOZELL, J. J. Connecting biomass and petroleum process with a chemical bridge. *Science*, v. 3, p. 329-522, 2010. <https://doi.org/10.1126/science.1191662>

BOYER, C. D., LIU, K. C. Starch and watersoluble polysaccharides from sugary endosperm of sorghum. *Phytochemistry*, v. 22, p.2513-2515, 1983.
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(83\)80151-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(83)80151-4)

BRANDRÃO, C. F. - Sorgo (Sorghum) na feira de Ciências da EMBRAPA 329 - 10 - Brasília, Brasil - em, abril, 2000. Disponível em: <<http://www.flickr.com/photos/flaviocb/137166579/in/gallery-51845610@N0272157625368510317/>>. Acesso em: 08 jan. 2020>.

BRÁS, N. Oligossacarídeos, *Rev. Ciência Elem.*, v.3(1), p.80, 2015
<https://doi.org/10.24927/rce2015.080>

BULÉON, A., COLONNA, P., PLANCHOT, V., BALL. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.23, p.85-112, 1998.
[https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(98\)00040-3](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(98)00040-3)

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento, safra bras, grãos, v. 2 - Safra 2014/15, n. 11 - Décimo primeiro levantamento, agosto 2015. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 08 nov. 2019>.

COSTA, J.A.V. Estudo da Produção de Amiloglucosidase por *Aspergillus niger* NRRL 3122 em Fermentação Semi-Sólida de Farelo de Arroz. Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, p. 203, 1996.

DE ARAÚJO, C. K. C., DE OLIVEIRA CAMPOS, A., DE ARAÚJO PADILHA, C. E., DE SOUSA JÚNIOR, F. C., DO NASCIMENTO, R. J. A., DE MACEDO, G. R., & DOS SANTOS, E. S. Enhancing enzymatic hydrolysis of coconut husk through *Pseudomonas aeruginosa* AP 029/GLVIA rhamnolipid preparation. *Bioresource Technology*, v. 237, p. 20-26, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.178>

EERE. Energy Efficiency e Renewable Energy. Disponível em: <<https://afdc.energy.gov/data/10331/> . Acesso em: 09 nov. 2019>.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Indicações de Aspectos Tecnológicos sobre o Bioetanol de Matéria-prima Amilácea, Documentos 94, 2009.

EPE. Empresa de Pesquisa Energética, Balanço Energético Nacional 2018. Relatório Síntese, ano base 2017, 12 p. Disponível em: <<http://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/> . Acesso em: 09 nov. 2019>.

FERNANDES, G., BRAGA, T. G., FISCHER, J., PARRELLA, R. A. C., DE RESENDE, M. M., & CARDOSO, V. L. Evaluation of potential ethanol production and nutrients for four varieties of sweet sorghum during maturation. *Renewable Energy*, v. 71, p.518-524, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.05.033>

FERNANDES, G. Avaliação e caracterização agroindustrial do sorgo sacarino visando a produção de etanol. 198 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) -Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

FERREIRA, V. F., ROCHA, D. R., SILVA, F. C. Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. *Quím. Nova*, São Paulo , v. 32, n. 3, p. 623-638, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000300007>.

FERREIRA, M.A., URBANO, S.A. Novas Tecnologias para Alimentação de Bovinos Leiteiros na Seca. *Revista Cientista Produção Animal*, v.15, n.1, p. 42-52, 2013. <https://doi.org/10.15528/2176-4158/rcpa.v15n1p42-52>

FIALHO, E. T., & BARBOSA, H. P. Alimentos alternativos para suínos (Vol, 1), Lavras: UFLA/FAEPE, 2008.

FORNASIERI FILHO, D., FORNASIERI, J. L. Manual da cultura do sorgo. Jaboticabal: Funep, p. 202, 2009.

GALVÃO, C. M. A. Hidropolise controlada de proteínas de soro láctico usando tripsina e quimotripsina imobilizadas em diferentes suportes. Tese - Departamento de Engenharia Química. Universidade Federal de São Carlos (DEQ/UFSCAR), 2004.

GUMIENNA, M., SZWENGIEL, A., SZCZEPAŃSKA-ALVAREZ, A., SZAMBELAN, K., LASIK-KURDYŚ, M., CZARNECKI, Z., & SITARSKI, A. The impact of sugar beet varieties and cultivation conditions on ethanol productivity. *Biomass and Bioenergy*, v. 85, p. 228-234, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.12.022>

HANSEN, M, R., BLENNOW, A., PEDERSEN, S., NORGAARD, L., ENGELSEN, S. B. Gel texture and chain structure of amylomaltase-modified starches compared to gelatin. *Food Hydrocolloids*, v.22, n.8, p.1551-1566, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.10.010>

HERRERA A., TÉLLEZ-LUIS S.J., RAMÍREZ J.A., VÁZQUEZ M. Production of xylose from sorghum straw using hydrochloric acid. *J. Cereal*, v.37, p. 267-74, 2003. <https://doi.org/10.1006/jcres.2002.0510>

IEA. International Energy Agency. Sustainable Production of Second generation Biofuels. Paris: OECD/IEA, 2010.

IEA. Instituto de Economia Agrícola. Situação Atual e Perspectivas da Produção Brasileira de Etanol de Milho, 2018. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/outerTexto.php?codTexto=14464>>. Acesso em: 09 de nov. 2018>.

KHATIWADA D., VENKATA B.K., JOHNSON F.X. Energy and GHG balances of ethanol production from cane molasses in Indonesia. *Appl Energy*, v. 68, p. 164:756, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.11.032>

KING D. Global clean energy in 2017. *Science*, p. 355-111, 2017. <https://doi.org/10.1126/science.aam7088>

KLINKE H.B., THOMSEN A.B., AHRING B.K. Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass. *Appl Microbiol Biotechnol*, v. 66, p. 10-26, 2004. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1642-2>

LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. Carbohidratos en alimentos regionales Iberoamericanos. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2006. 648p.

LANDAU, E. C., NETTO, D. A. M. Expansão Potencial da Produção de Sorgo Granífero no Brasil no Sistema de Rotação com Soja Considerando o Zoneamento de Risco Climático, 2015/16. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 125, 2015.

LEITE, R., G. Uso de ddgs na suplementação protéico energética em bovinos em pastejo na estação chuvosa. Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, 2018.

LÉVÊQUE, E., JANEČEK, Š., HAYE, B., BELARBI, A. Thermophilic archaeal amylolytic enzymes. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 26(1), p. 3-14, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(99\)00142-8](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(99)00142-8)

LI, G., WANG, X., LIN, M., LU, Z., & YAO, W. Effects of corn DDGS in combination with compound enzymes on growth performance, carcass fat quality, and plasma and tissue redox homeostasis of growing-finishing pigs. *Livestock Science*, v. 149(1-2), p. 46-52, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.06.019>

LIN, W.L., FELDBERG, R.S., CLARK, E.D.B. Kinetics of Cell Growth and Heterologous Glucoamylases Production in Recombinant *Aspergillus nidulans*. *Biotechnology and Bioengineering*. v. 41, p. 273-279, 1993. <https://doi.org/10.1002/bit.260410214>

LIN Y., TANAKA S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Appl. Microbiol, Biotechnol*, v. 69, p. 627-642, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0229-x>

LIU, H., REN, L., SPIERTZ, H., ZHU, Y., XIE, G.H. An economic analysis of sweet sorghum cultivation for ethanol production in North China. *GCB Bioenergy*, v. 7, p. 1176-1184, 2015. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12222>

MAGALHÃES, P.C., DURÃES, F.O.M., SCHAFFERT, R.E. Fisiologia da planta de sorgo. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica 3, 2000.

MANSURE, J. J., SOUZA, R.C., PANEK, A.D. Trehalose metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation. *Biotechnology Letters*, Kew, v.19, n.2, p.1201-1203, 1997. <https://doi.org/10.1023/A:1018433820097>

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Anuário Estatístico da Agroenergia 2014: statistical yearbook of agrienergy 2014 / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Produção e Agroenergia. Bilingue, - Brasília: MAPA/ACS, 205 p, 2015.

MATSUSHIKA, A., INOUE, H., KODAKI, T., SAWAYAMA, S. Ethanol production from xylose in engineered *Saccharomyces cerevisiae* strains: current staté and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.84, p.37-53, 2009, <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2101-x>

MAY, A., MAGALHÃES, P.C., ABREU, M.C., PARRELLA, N.N.L.D., CAMPANHA, M.M., SILVA, A.F., SCHAFFERT, R.E., PARRELLA, R.A. C. Fito-hormônios no desenvolvimento vegetativo e germinação das sementes de sorgo sacarino. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 12, p. 33-43, 2013. <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v12n1p33-43>

MCCUISTION, K. C., SELLE, P. H., LIU, S. Y., GOODBAND, R. D. Sorghum as a Feed Grain for Animal Production. *Sorghum and Millets*, p.355-391, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811527-5.00012-5>

MEHMOOD, S., GULFRAZ, M., RANA, N.F., AHMAD, A., AHRING, B.K., MINHAS, N. Ethanol production from *Sorghum bicolor* using both separate and simultaneous saccharification and fermentation in batch and fed batch systems. *Afr J Biotechnol* v.8, p2857-65, 2009.

MENON, V., RAO, M. Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 38, n 4, p. 522-550, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.peccs.2012.02.002>

MOJOVI, L., PEJIN, D., GRUJI, O., MARKOV, S., PEJIN, J., RAKIN, M., VUKASINOWI, M., NIKOLI, S., SAVI, D. Progress in the production of bioethanol on starch-based feedstock. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, v. 15, p. 211-226, 2009. <https://doi.org/10.2298/CICEQ0904211M>

MOSHI, A. P., HOSEA, K. M. M., ELISANTE, E., MAMO, G., MATTIASSON, B. High temperature simultaneous saccharification and fermentation of starch from inedible wild

cassava (*Manihot glaziovii*) to bioethanol using *Caloramator boliviensis*. *Bioresource Technology*, v. 180, p. 128-136, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.087>

MOREIRA, J.R. Sugar cane for energy recent results and progress in Brazil. *Energy for Sustainable Development*, v. 17, p. 43-54, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0973-0826\(08\)60252-5](https://doi.org/10.1016/S0973-0826(08)60252-5)

MUSSATO, S.I., DRAGONE, G., GUIMARAES, P.M., SILVA, J.P., CARNEIRO, M.L., ROBERTO, I.C., VICENTE, A., DOMINIQUES, L., TEIXEIRA, J.A. Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. *Biotechnol Adv.*, v. 28 (6), p. 817-830, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.07.001>

NIKOLIĆ, S., MOJOVIĆ, L., RAKIN, M., PEJIN, J., DJUKIĆ-VUKOVIĆ, A., BULATOVIĆ, M. Simultaneous enzymatic saccharification and fermentation (SSF) in bioethanol production from corn meal by free and immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*. *J. Chem. Sci. Technol*, v.1, p. 23-28, 2012.

OBEL, L.B. Putting enzymes to work in bakery applications. *Cereal Foods World*, v.46, n.9, p. 396-399, 2001.

OCDE/FAO - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. *Perspectivas Agrícolas 2016-2025*, OECD Publishing, Paris. 2016. Disponível em: . Acesso em: 04 fev. 2019.

OECD/FAO. Organisation for Economic Co-operation and Development - Food and Agriculture Organization of the United Nations. *OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2015*, OECD Publishing, Paris, 2015.

ORGANIZAÇÃO DE ALIMENTOS E AGRICULTURA DAS NAÇÕES UNIDAS (FAOSTAT). Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acesso em: 09 nov. 2019.

ÖHGREN, K., BURR, R., LESNICKI, G., SADDLER, J., ZACCHI, G. A comparison between simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation using steam-pretreated corn stover. *Process Biochem*, v.42 (5), p.835-839, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.02.003>

PANDEY, A., WEBB, C., SOCCOL, C.R., LARROCHE, C. *Enzyme Technology*. 1ª ed. New Delhi: Asiatech Publishers, Inc, p.760, 2005.

PARK, Y.K., SANTI, M.S.S. Induction of High Amyloglucosidase Producing Mutant from *Aspergillus awamori*. *Journal of Fermentation Technology*, v. 55, p.193-195, 1977.

PRAJAPATI, V., TRIVEDI, U., PATEL, K.C. Bioethanol production from the raw corn starch and food waste employing simultaneous saccharification and fermentation approach. *Waste Biomass Valorization*, v. 6, p.191-200, 2015. <https://doi.org/10.1007/s12649-014-9338-z>

RAMÍREZ, M. B., FERRARI, M. D., LAREO, C. Fuel ethanol production from commercial grain sorghum cultivars with different tannin content. *Journal of Cereal Science*, v. 69, p. 125-131, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.02.019>

REED, G. *Enzymes in Food Processing*. 2.ed. New York: Academic Press Inc., p. 62-87, 1975.

REGULY, J. C. *Biocologia dos processos fermentativos: Matérias-primas agrícolas, processos e produtos*. Pelotas: Universitária/UFPEL, v. 1, 330 p, 1996.

RESENDE, A.V., COELHO, A.M., RODRIGUES, J.A.S., SANTOS, F.C. Adubação maximiza o potencial produtivo do sorgo. Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica 119, 8p, 2009.

RIBAS, P. M. Sorgo: Introdução e Importância Econômica, Sete Lagoas-MG: Embrapa, 16 p, (Documento 23), 2003.

RIBEIRO FILHO, N.M., FLORENCIO, I.M., ROCHA, A.S., DANTAS, J.P., FLORENTINO, E.R., SILVA, DA, F.L.H. Aproveitamento do caldo do sorgo sacarino para produção de aguardente. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.10, n.1, p.9-16, 2008. <https://doi.org/10.15871/1517-8595/rbpa.v10n1p9-16>

RODRIGUES, J. A. S. Sistema de produção do sorgo. Embrapa Milho e Sorgo, Sistemas de Produção 2, 2010.

ROSSETO, R. E., MADALENA, L. C. S , OLIVEIRA, A. F., CHANG, P., PRIMIERI, B. F., FRIGO, P. E., SANTOS, F. R. Panorama do etanol do Brasil, II Seminário de Engenharia de Energia na Agricultura, v.6, n 5, p. 13-22, 2017.

SAKELLAVIOU-MAKRANTONAKI, M., PAPALEXIS, D., NAKOS, N., KALAVROUZOTIS, I.K. Effect of modern irrigation methods on growth and energy production of sweet sorghum (var, Keller) on a dry year in Central Greece. Agric Water Manage, v.90, p.181-189, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2007.03.004>

SANTOS, F., EICHLER, P., MACHADO, G., DE MATTIA, J., DE SOUZA, G. By-products of the sugarcane industry, Sugarcane Biorefinery. Technology and Perspectives, p. 21-48, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814236-3.00002-0>

SAXENA, R.C., ADHIKARI, D.K., GOYAL, H.B. Biomass-based energy fuel through biochemical routes: A review, Renewable and Sustainable Energy Reviews, v.13, p.167-178, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2007.07.011>

SCIPIONIO, G. C. Otimização do processo de sacarificação do amido de batata (*solanum tuberosum* L.) utilizando enzimas amilolíticas. 126 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil 2011.

SCHMIDELL, W. LIMA, U. A. AQUARONE, E. BORZANI, W. Biotecnologia industrial: volume III: fundamentos. Editora Edgard Blücher LTDA. São Paulo-SP, 2001.

SHAFIEE, S., TOPAL, E. A long-term view of worldwide fossil fuel prices. *Appl Energy*, v. 87, p. 988-1000, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.09.012>

SHAKOOR, N., NAIR, R., CRASTA, O., MORRIS, G., FELTUS, A., KRESOVICH, S.A. Sorghum bicolor expression atlas reveals dynamic genotype-specific expression profiles for vegetative tissues of grain, sweet and bioenergy sorghums. *BMC Plant Biol*, v. 14, p. 1-35, 2014. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-35>

SILVA, C. E. C. Avaliação dos condicionantes ambientais na perspectiva de expansão da produção de etanol, 110 f. Dissertação (Mestrado em Planejamento Energético) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós Graduação e Pesquisa de Engenharia, 2010.

SILVA, E. M. S., PERES, A. E. C., SILVA, A. C., LEAL, M. C. D. M., LIÃO, L. M., ALMEIDA, V. O. Sorghum starch as depressant in mineral flotation: part 1 - extraction and characterization. *Journal of Materials Research and Technology*, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2018.04.001>

SOUZA, C.C., DE DANTAS, J.P., SILVA, S., DE M., ALMEIDA, F.A., SILVA, L.E. Produtividade do sorgo granífero cv, Sacarino e qualidade de produtos formulados isoladamente ou combinados ao caldo de cana-de-açúcar. *Ciên. Tecnol. Alimentos*, Campinas, v.25, n 3, p.512-517, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000300020>

SPIEHS, M. J., WHITNEY, M. H., SHURSON, G. C. Nutrient database for distiller's dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South Dakota, *Journal of Animal Science*, v.80, p.2639-2645, 2002. <https://doi.org/10.1093/ansci/80.10.2639>

SUVD, D., FUJIMOTO, Z., TAKASE, K., MATSUMURA, M., MIZUNO, H. Crystal structure of *Bacillus stearothermophilus* alpha-amylase: possible factors determining the thermostability. *Journal of Biochemistry*, v.129, p.461-468, 2001. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a002878>

SZAMBELAN, K., NOWAK, J., FRANKOWSKI, J., SZWENGIEL, A., JELEN, H., BURCZYK, H. The comprehensive analysis of sorghum cultivated in Poland for energy purposes: Separate hydrolysis and fermentation and simultaneous saccharification and fermentation methods and their impact on bioethanol effectiveness and volatile by-products from the grain and the energy potential of sorghum straw. *Bioresource Technology*, v.250, p. 750-757, 2018-a. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.096>

SZAMBELAN, K., NOWAK, J., SZWENGIEL, A., JELEŃ, H., ŁUKASZEWSKI, G. Separate hydrolysis and fermentation and simultaneous saccharification and fermentation methods in bioethanol production and formation of volatile by-products from selected corn cultivars. *Industrial Crops and Products*, v.118, p.355-361, 2018-b. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.059>

TASIĆ, M. B., KONSTANTINOVIĆ, B. V., LAZIĆ, M. L., VELJKOVIĆ, V. B. The acid hydrolysis of potato tuber mash in bioethanol production, *Biochemical Engineering Journal*, v.43, n. 2, p. 208-211, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.09.019>

TELLEZ-LUIS, S.J., RAMIREZ, J.A., VAZQUEZ, M. Mathematical modelling of hemicellulosic sugar production from sorghum straw. *J Food Eng*, v.52, p.285-91, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00117-0](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00117-0)

TESTER, R. F., KARKALAS, J., QI, X. Review: Starch Composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, v.39, p.151-165, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.12.001>

TSUNECHIRO, A., MARIANO, R.M., MARTINS, V.A. Produção e preços de sorgo no Estado de São Paulo, 1991-2001. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.1, n.1, p.15-24, 2002. <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v1n1p15-24>

VAN DER MAAREL, M. J. E., VAN DER VEEN, B., UITDEHAAG, J. C., LEEMHUIS, H., DIJKHUIZEN, L. (2002). Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*, v.94(2), p.137-155, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00407-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00407-2)

VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. New York, 1994, 476 p.

VANCOV, T., MCINTOSH, S. Mild acid pretreatment and enzymatic saccharification of *Sorghum bicolor* straw. *Appl Energy*, v.92, p.421-8, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.11.053>

VÁZQUEZ, M., OLIVA, M., TELLEZ-LUIS, S.J., RAMÍ REZ, J.A. Hydrolysis of sorghum straw using phosphoric acid: evaluation of furfural production. *Bioresour Technol*, v. 98, p.3053-60, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.017>

VERACINI, J. L., WALKER, P. M., FAULKNER, M. J., HALL, R. E., ATKINSON, R. L., WIEGAND, B. R. Effects of high fat, modified wet, corn distiller's grains plus solubles on beef steer performance and carcass characteristics. *Livestock Science*, v.157, n.1, p.151-161, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.07.014>

VIÉGAS, M. C. Otimização de Sistema de Fermentação Alcoólica Contínua Utilizando Reatores Tipo Torre e Leveduras com Características Floculantes, 135 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2003.

VRIES, S. C., VAN DE VEN, G. W. J., VAN ITTERSUM, M. K., GILLER, K. E. Resource use efficiency and environmental performance of nine major biofuel crops, processed by first generation conversion techniques. *Biomass Bioenergy*, v. 34, p.588-601, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.01.001>

ZAKARIA, Z., KAMARUDIN, S. K., TIMMIATI, S. N. Membranes for direct ethanol fuel cells: an overview. *Appl Energy*, v.42, p.163-334, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.10.124>

ZANIN, G. M., SANTANA, C.C., BON, E. P. S., GIORDANO, R. C. L., MORAES, F. F. ANDRIETTA, R. S., NETO, C. C. C., MACEDO, I. C., FO, D. L., RAMOS, L. P., FONTANA, J. D. Brazilian bioethanol program. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.84-86, p.1147-1161, 2000. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1392-5_90

ZHANG, C., WEN, H., CHEN, C., CAI, D., FU, C., LI, P., TAN, T. Simultaneous saccharification and juice co-fermentation for high-titer ethanol production using sweet sorghum stalk. *Renewable Energy*, v.134, p.44-53, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.11.005>

ZHANG, J., MA, X., YU, J., ZHANG, X., TAN., T. The effects of four different pretreatments on enzymatic hydrolysis of sweet sorghum bagasse. *Biores Technol*, v.102, p. 4585-9, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.093>

ZHANG, L., CHEN, Q., JIN, Y., XUE, H., GUAN, J., WANG, Z., ZHAO, H. Energy-saving direct ethanol production from viscosity reduction mash of sweet potato at very high gravity (VHG). *Fuel Process Technol*, v.91, n.12, p. 1845-1850, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2010.08.009>

ZHU, S., TONG, Y., LV, Y., WU, Y. Use of ionic liquid to improve the production of hydroxymethylfurfural from renewable biomass. *BioResources*, v. 7 n.1, p.3-4, 2012.

ZHU, S., LUO, F., HUANG, W., HUANG, W., WU, Y. Comparison of three fermentation strategies for alleviating the negative effect of the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate on lignocellulosic ethanol production. *Applied Energy*, v.197, p. 124-131, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.04.011>

WANG, P., SINGH, V., XUE, H., JOHNSTON, D.B., RAUSCH, K.D., TUMBLESON, M.E. Comparison of raw starch hydrolysing enzyme with conventional liquefaction and saccharification enzymes in dry-grind corn processing. *Cereal Chem*, v. 84, p.10-14, 2007. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-84-1-0010>

YADAV, M. P., FISHMAN, M. L., CHAU, H. K., JOHNSTON, D. B., HICKS, K. B. Molecular characteristics of corn fiber gum and their influence on its emulsifying properties. *Cereal Chemistry*, v.84, n.2, p.175-180, 2007a. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-84-2-0175>

YADAV, M., JOHNSTON, P. D. B., HOTCHKISS, A. T., HICKS, K. B. Corn fiber gum: A potential gum arabic replacer for beverage flavor emulsion. *Food Hydrocolloids*, v.2, p. 1022-1030, 2007b. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.07.009>

YADAV, M. P., JOHNSTON, D. B., HICKS, K. B. Structural characterization of corn fiber gum from coarse and fine corn fiber and a study of their emulsifying properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.55, p.6366-6371, 2007d. <https://doi.org/10.1021/jf070024q>

YADAV, M. P., MOREAU, R. A., HICKS, K. B. Phenolic acids, lipids, and proteins associated with purified corn fiber arabinoxylans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.55, p.943-947, 2007c. <https://doi.org/10.1021/jf0624493>