

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 20/03/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO
UTILIZANDO BAGAÇO DE SORGO SACARINO,
FORRAGEIRO E BIOMASSA**

Lidyane Aline de Freitas

Bióloga

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO
UTILIZANDO BAGAÇO DE SORGO SACARINO,
FORRAGEIRO E BIOMASSA**

Lidyane Aline de Freitas

**Orientadora: Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton
Coorientadora: Sarita Cândida Rabelo**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Microbiologia Agropecuária.

F862p Freitas, Lidyane Aline

Produção de Etanol de Segunda Geração Utilizando Bagaço de Sorgo Sacarino, Forrageiro e Biomassa / Lidyane Aline de Freitas. - Jaboticabal, 2017
xiii, 179 p.: il.; 28 cm

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientadora: Márcia Justino Rossini Mutton
Coorientadora: Sarita Cândida Rabelo
Banca examinadora: Sandra Regina Cecatto Antonini, Leonardo Lucas Madaleno, Raúl Andres Martinez Uribe, Carlos Eduardo Vaz Rossel

Bibliografia

1. *Sorghum bicolor*. 2. Pré-tratamento. 3. *Pichia kudriavzevii*. 4. Hidrólise enzimática; 5. Hidrolisado ácido. 6. Bioenergia. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 576.8..663.5

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO UTILIZANDO BAGAÇO DE SORGO SACARINO, FORRAGEIRO E BIOMASSA

AUTORA: LIDYANE ALINE DE FREITA

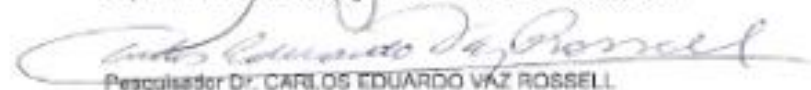
ORIENTADORA: MARCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON

COORDINADORA: SARITA CANDIDA RABELO

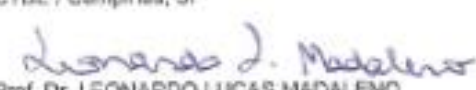
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisador Dr. CARLOS EDUARDO VAZ ROSSELL
CTBE / Campinas, SP



Prof. Dr. LEONARDO LUCAS MADALENO
Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza / FATEC - Jaboticabal/SP



Profa. Dra. SANDRA REGINA CECCATO ANTONINI
CCA/UFSCAR / Araras, SP



Prof. Dr. RAUL SOARES MARTINEZ URIBE
FCE / UNESP - Tupã, SP

Jaboticabal, 20 de março de 2017.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LIDYANE ALINE DE FREITA - nasceu aos 29 de Janeiro de 1986, na cidade de Araraquara, estado de São Paulo. Em Fevereiro de 2005 ingressou no curso de Ciências- Licenciatura Plena na Faculdade Centro Universitário “Barão de Mauá”, recebendo o título de Bióloga em Dezembro de 2010. A partir de setembro de 2005 passou a integrar os grupos de pesquisa “Processos Biotecnológicos Aplicados à Agroindústria” e “Fisiologia e Manejo Sustentável da Cana-de-açúcar”, participando de diversos projetos. Ingressou no Programa de Pós-Graduação em Microbiologia (Microbiologia Agropecuária), em nível de mestrado da FCAV – UNESP, obtendo o título de Mestre em fevereiro de 2013. Neste mesmo período ingressou no programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, em nível de doutorado da FCAV – UNESP, logrando o título de doutora em Microbiologia Agropecuária em março de 2017.

Epígrafe

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais
volta a seu tamanho original”.

Albert Einstein

A minha família, meu espelho e minha alegria de viver - amados pais Mauro e Célia, querida irmã Cristhyane e amado namorado Matheus, obrigada por todo o amor, confiança e dedicação. Minha eterna gratidão por tudo que fazem e fizeram por mim, agradeço a Deus todos os dias por estar nessa família. Amo muito vocês!

Dedico.

A minha querida orientadora e coorientadora, **Professora Dra. Márcia J. R. Mutton** e **Dra. Sarita Cândida Rabelo** que foram capazes de me fazer trilhar por um crescimento profissional que julgava impossível em tão pouco tempo. O vosso brilhantismo acadêmico e altruísmo à pesquisa compuseram uma somatória fundamental não só para a construção do pensamento que se traduz nas páginas deste longo texto, mas como para a maturidade de toda uma vida a seguir: antes de tudo, este momento se dedica a estas grandes mestras com carinho.

Ao Prof. Dr. Miguel Angelo Mutton, pelo carinho, pela atenção, pelos conselhos e ensinamentos. Agradeço imensamente por estar presente nesta etapa da minha vida

Ofereço.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por ter-me iluminado e guiado na minha trajetória;
Aos meus pais, irmã e namorado por todo carinho, apoio, incentivo e colo nas horas mais difíceis.

A Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton e ao Prof. Dr. Miguel Angelo Mutton, pela oportunidade, orientação e ensinamentos para minha vida profissional e pessoal;

A Dra. Sarita Cândida Rabelo pela oportunidade que me deu, por tudo que aprendi com você e graças a você, obrigada pela paciência e carinho.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal pela oportunidade de crescimento como ser humano e profissional.

Ao Programa de Microbiologia Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/UNESP) pela oportunidade de realizar o curso de doutorado;

A Profa. Dra. Maria Inês Tiraboschi Ferro pelo carinho, pela atenção, pelos conselhos e ensinamentos.

Ao CTBE (Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Biotanol) pela concessão de suas instalações para realização das análises. Pela equipe do CTBE, que me recebeu com muito carinho e atenção, me ajudou e me apoiou em todo o momento, em especial pela amizade da Daniele Cristina Joaquim Santoro, Edilaine de Melo Ferreira Tenório e Tatiane Tarley Pereira.

À Profa. Dra. Maria das Graças de Almeida Felipe e sua equipe, nas pessoas do Andrés e Alejandra, que colaboraram para a realização das análises deste experimento.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

A equipe do Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Alcool: Aline, Cristhyane, Franciele, Gustavo, Vitor, Juliana, Karen, Letícia, Marcel, Matheus, Nathieli, Nayara, Osania, Sérgio e Welton, por toda ajuda e amizade.

A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização desse estudo.

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.	Erro! Indicador não definido.
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Sorgo- Aspectos gerais da cultura	16
2.1.2 Fenologia do Sorgo	17
2.1.2.1 Tipos comerciais de sorgo.....	19
2.1.2.2 Sorgo Granífero.....	19
2.1.2.3 Sorgo Forrageiro	20
2.1.2.4 Sorgo Sacarino.....	21
2.1.2.5 Sorgo Biomassa	23
2.1.2.6 Sorgo Vassoura.....	24
2.2 Macro e micronutrientes nas plantas	24
2.3 Produção de Biocombustíveis de Primeira e Segunda Geração	27
2.4 Biomassas Lignocelulósicas	29
2.4.1 Celulose	30
2.4.2 Hemiceluloses	33
2.4.3 Lignina.....	35
2.4.4 Pectinas.....	39
2.4.5 Outros Compostos	39
2.5 Produção de Etanol a Partir de Materiais Lignocelulósicos.....	40
2.5.1 Produção de Enzimas	43
2.5.2 Pré-tratamento	44
2.5.2.1 Tipos de Pré-tratamento.....	46
2.5.2.2 Pré-tratamento com ácido diluído.....	46
2.5.2.3 Formação de inibidores	47
2.5.3 Hidrólise Enzimática	49
2.5.3.1 As enzimas Celulases	50
2.5.3.2 Principais fatores que afetam a hidrólise enzimática.....	53

2.6 Processos de fermentação dos materiais lignocelulósicos	54
2.6.1 Leveduras fermentoras de pentoses e hexoses	56
2.7 Perspectivas da Produção de Etanol Celulósico no Brasil	61
3.0 MATERIAL E MÉTODOS	63
3.1 Sorgo.....	63
3.2 Condições do teste preliminar do pré-tratamento.....	64
3.2.1 Scaling up do processo	65
3.2.2 Concentração e destoxificação do hidrolisado hemicelulósico	66
3.2.3 Isolamento da levedura	67
3.2.4 Purificação.....	67
3.2.5 Teste de crescimento em diferentes temperaturas	68
3.2.6 Assimilação de fontes de carbono	68
3.2.6.1 Meio de inoculação preliminar	68
3.2.6.2 Meio de assimilação de fonte de carbono	69
3.2.6.3 Identificação da levedura fermentadora.....	70
3.2.6.4 Reativação das culturas e crescimento de massa celular.....	71
3.3 Fermentação da fração C5 (pentoses)	71
3.4 Hidrólise enzimática.....	72
3.4.1 Determinação da atividade enzimática.....	72
3.4.2 Hidrólise enzimática	72
3.4.3 Fermentação da fração C6.....	73
3.5 Métodos analíticos	74
3.5.1 Análises químicas das biomassas.....	74
3.6 Determinação de carboidratos, aldeídos furânicos, ácidos orgânicos e produtos fermentativos por HPLC	75
3.7 Determinações de macro e micronutrientes	76
3.8 Determinação do valor energético bruto.....	76
3.9 Microscopia eletrônica de varredura	77
3.10 Análise Estatística	78
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
4.1 Composição química das biomassas <i>in natura</i>	79
4.2 Características morfológicas dos bagaços de sorgo.....	80
4.3 Screening das condições de pré-tratamento	84

4.4 Identificação, caracterização e classificação da levedura	90
4.5 Fermentação de pentoses	93
4.5.1 Viabilidade Celular	97
4.5.2 Produção de Etanol e subprodutos	99
4.6 Hidrolise enzimática.....	103
4.6.1 Atividade enzimática	104
4.6.2 Perfil de Hidrólise Enzimática.....	106
4.7 Fermentação hidrolisado enzimático	108
4.7.1 Viabilidade Celular	112
4.7.2 Produção de Etanol e subprodutos	116
4.8 Produtividade.....	118
4.9 Nutrientes	122
4.9 Poder calorífico dos resíduos.....	130
5.0 CONCLUSÕES	134
6. REFERÊNCIAS	136
Apêndices.....	160
Apêndice I – Determinação de Extrativos	160
Apêndice II	164

PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO UTILIZANDO BAGAÇO DE SORGO SACARINO, FORRAGEIRO E BIOMASSA

RESUMO – O etanol de cana-de-açúcar vive uma crise devido, principalmente, a não expansão dos processos fermentativos que terminam por depender de apenas uma fonte e que ainda apresenta o agravante de ter que ser segregado à produção de açúcar. Desta forma, o sorgo surge como cultura energética, como matéria-prima para produção de etanol, tanto do ponto de vista agrônomo quanto industrial. O sorgo apresenta colmos ricos em açúcares fermentáveis, semelhantes à cana-de-açúcar. Objetivou-se com a presente pesquisa avaliar a potencialidade de 3 genótipos de sorgo (sacarino, forrageiro e biomassa) para produção de etanol 2G, com ênfase na caracterização do bagaço antes e após pré-tratamento ácido e hidrólise enzimática, e na fermentação dos hidrolisados por duas leveduras, sendo a LJ3, fermentando as pentoses e as hexoses com *Saccharomyces cerevisiae* (PE-2). Avaliou-se a composição dos bagaços dos 3 genótipos de sorgo em relação aos nutrientes, além da análise de microscopia eletrônica para visualização das biomassas após os tratamentos realizados. Os resultados evidenciaram a eficiência do pré-tratamento e da hidrólise enzimática possibilitando a recuperação dos açúcares presentes no bagaço de sorgo para composição do mosto a ser fermentado; a cepa LJ03 foi classificada como *Pichia kudriavzevii*, que apresentou habilidade para metabolizar pentoses e hexoses a etanol. A hidrólise enzimática foi eficiente e possibilitou a produção de 11,83; 12,28 e 7,79g etanol/kg bagaço m.s., para os genótipos sacarino, forrageiro e biomassa, respectivamente empregando a levedura PE-2. Observou-se nas análises de nutrientes dos bagaços dos diferentes genótipos de sorgo, que estes reduziram significativamente das biomassas *in natura*, para biomassa pré-tratada e após hidrólise enzimática. O poder calorífico (PCS, PCI e PCU) dos resíduos gerados na produção de etanol 2G, foi de 3811; 3902 e 3953Kcal.kg⁻¹ respectivamente para o sorgo sacarino, forrageiro e biomassa. Para a produção de etanol 2G obteve-se rendimento total de 59,38; 45,33 e 25,53 litros de etanol.t⁻¹ de massa seca respectivamente, e produção de 1.301,48, 964,82 e 805,52 litros de etanol/ha, respectivamente. O genótipo BRS508 (sacarino) foi o que apresentou maior produção de etanol de segunda geração em comparação aos BRS610 (forrageiro) e BD7605 (Biomassa).

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*; Pré-tratamento; *Pichia kudriavzevii*; Hidrólise enzimática; Hidrolisado ácido; Bioenergia.

PRODUCTION OF SECOND GENERATION ETHANOL USING SWEET, FORAGE AND BIOMASS SORGHUM BAGASSE

ABSTRACT- Sugarcane ethanol is experiencing a crisis, mainly due to the non-expansion of the fermentation processes that end up depending on only one source that still presents the aggravating factor of having to be segregated to the sugar production. In this context, sorghum emerges as an energy crop, as a raw material for the ethanol production, both from an agronomic and industrial point of view. Sorghum has stalks rich in fermentable sugars, similar to sugarcane. The objective of this research was to evaluate the potentiality of 3 genotypes of sorghum (sweet, forage and biomass) for the production of 2G ethanol, with emphasis on the characterization of bagasse before and after acid pretreatment and enzymatic hydrolysis, and in the fermentation of the hydrolysates by two yeasts, the LJ3 fermenting pentoses and *Saccharomyces cerevisiae* (PE-2) fermenting hexoses. The composition of the three sorghum genotypes in relation to the nutrients was evaluated, as well as the analysis of electron microscopy to visualize the biomass after the treatments. The results evidenced the efficiency of the pretreatment and the enzymatic hydrolysis allowing the recovery of the sugars present in the sorghum bagasse for the composition of the must to be fermented. The LJ03 strain was classified as *Pichia kudriavzevii*, which showed ability to metabolize pentoses and hexoses to produce ethanol. The enzymatic hydrolysis was efficient and allowed the production of 11.83; 12.28 and 7.79g ethanol/kg bagasse, for the sweet, forage and biomass genotypes, respectively, employing yeast PE-2. It was observed in the nutrient analysis of the bagasse of the different sorghum genotypes, that nutrients reduced significantly of the *in natura* biomasses, for pretreated biomass and after enzymatic hydrolysis. The calorific value (HHV, LHV, and UHV) of the waste generated in the 2G ethanol production was 3811; 3902 and 3953Kcal.kg⁻¹, respectively, for sweet, forage and biomass sorghum. The production of 2G ethanol there was a total yield of 59.38; 45.33 and 25.53 liters of ethanol.t⁻¹ of dry mass, respectively, and production of 1301.48, 964.82 and 805.52 liters of ethanol/ha, respectively. The BRS508 (sweet) genotype showed the highest production of second generation ethanol compared to BRS610 (forage) and BD7605 (biomass).

Index terms: *Sorghum bicolor*; pretreatment, *Pichia kudriavzevii*, enzymatic hydrolysis; acid hydrolysis; bioenergy.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 01. Sorgo- Estágios de crescimento da emergência á maturação.....	20
Figura 02. Sorgo granífero.....	21
Figura 03. Sorgo forrageiro.....	22
Figura 04. Sorgo sacarino.....	23
Figura 05. Sorgo biomassa.....	24
Figura 06. Sorgo vassoura.....	25
Figura 07. Modelo da estrutura molecular dos principais constituintes do material lignocelulósico (parede secundária).....	30
Figura 08. Estrutura molecular do polímero natural celulose e da sua unidade monomérica celobiose.....	32
Figura 08.1. (A) Rede de microfibrilas de celulose contendo regiões cristalinas intercaladas por regiões amorfas e (B) estrutura molecular parcial da hemicelulose tendo como unidades repetitivas o monômero de glicose e o dímero de glicose que é a unidade de celobiose.....	33
Figura 09. Estrutura molecular parcial da hemicelulose.....	34
Figura 10. Representações de unidade de polissacarídeos presentes na hemicelulose: (1) β -D-Xylose, (2) α -L-Arabinopyranose, (3) α -L-Arabinoforano, (4) β -D-Glucose, (5) β -D-Manose, (6) α -D-Galactose, (7) β -D-Ácido Glucurônico, (8) α -D-4-O-Ácido methylglucuronic, (9) α -D-Ácido galactose, (10) α -L-Ramnose e (11) α -L-Fucose.....	35
Figura 11. Precursores primários da lignina: a) álcool trans-p-cumarílico; b) álcool trans-coniferílico e c) álcool trans-sinapílico.....	37
Figura 12. Principais unidades aromáticas presente na molécula de lignina: (a) p-hidroxifenila; (b) Guaiacila; (c) Siringila.....	38
Figura 13. Estrutura parcial hipotética de lignina.....	39
Figura 14. Estrutura geral da pectina.....	40
Figura 15. Estrutura hierárquica de um tecido vegetal.....	42
Figura 16. Representação esquemática dos níveis que precedem a formação de uma microfibrila presentes em plantas superiores. (a) seção transversal da	

estrutura formada pelas 6 cadeias de celulose na subunidade dos complexos específicos terminais. Cada retângulo cinza representa uma cadeia de celulose. (b) seção transversal das fibras elementares; (c) seção transversal das microfibrilas de celulose composta de 6 fibrilas elementares; (d) seção lateral das microfibrilas mostrando a configuração em série de regiões cristalinas e amorfas.....	43
Figura 17. Estrutura hierárquica da constituição de uma macrofibrila.....	44
Figura 18. Pré-tratamento em materiais lignocelulósicos.....	46
Figura 19. Formação dos componentes inibitórios.....	49
Figura 20. Representação esquemática da ação catalítica do complexo enzimático (celulase) sobre celulose com geração de glicose.....	51
Figura 21. Rotas de hidrólise e fermentação.....	56
Figura 22. Esquema simplificado do metabolismo de xilose até etanol por leveduras.....	58
Figura 23. Reações bioquímicas da via glicolítica em leveduras.....	60
Figura 24. Reações bioquímicas da via glicolítica em leveduras indicando a formação de subprodutos.....	62
Figura 25. Tubos de ensaio contendo meio para teste de crescimento em diferentes temperaturas (A: resultado positivo; B: resultado negativo).....	69
Figura 26. Teste de assimilação de fonte de carbono (A: crescimento negativo; B: crescimento moderado ou lento; C: crescimento intenso).....	71
Figura 27. Reator aço inoxidável com capacidade de 7L, com agitação 23,5Hz e temperatura a 50°C, por 72 horas.....	74
Figura 28. Metalização das amostras com ouro paládio através do equipamento DESK II - DENTON VACUM (A). Visualização microscópica das amostras através do equipamento JOEL- JSM5410 (B).....	79
Figura 29. Fotomicrografias do bagaço de sorgo BRS508 “in natura” (A – aumento de 50x; B – aumento de 1000x); pre-tratado (C – aumento de 50x; D – aumento de 1000x) e após hidrólise enzimática (E – aumento de 50x; F – aumento de 1000x).....	82
Figura 30. Fotomicrografias do bagaço de sorgo BRS610 “in natura” (A – aumento de 50x; B – aumento de 1000x); pre-tratado (C – aumento de 50x; D	

– aumento de 1000x) e após hidrólise enzimática (E – aumento de 50x; F – aumento de 1000x).....	83
Figura 31. Fotomicrografias do bagaço de sorgo BD7605 “in natura” (A – aumento de 50x; B – aumento de 1000x); pre-tratado (C – aumento de 50x; D – aumento de 1000x) e após hidrólise enzimática (E – aumento de 50x; F – aumento de 1000x).....	84
Figura 32. Concentração das médias dos açúcares de cinco carbonos.....	87
Figura 33. Concentração das médias dos açúcares de seis carbonos.....	88
Figura 34. Concentração das médias de ácido acético.....	89
Figura 35. Fotografia de colônias da levedura LJ3, em meio GYMP, após 72 horas de incubação, a 30°C.....	91
Figura 36. Desdobramento de xilose ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam tempos de fermentação. Letras maiúsculas comparam genótipos de sorgo.....	95
Figura 37. Desdobramento de arabinose ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam tempo de fermentação. Letras maiúsculas comparam genótipos de sorgo.....	96
Figura 38. Desdobramento de glicose ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam genótipos dentro de cada tempo de fermentação. Letras maiúsculas comparam tempos dentro de cada genótipo de sorgo.....	97
Figura 39. Viabilidade celular. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e biomassa (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam genótipos dentro de cada tempo de fermentação. Letras maiúsculas comparam tempos dentro de cada genótipo de sorgo.....	98
Figura 40. Viabilidade de brotos. Interação entre genótipos de sorgo sacarino	

(BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam genótipos dentro de cada tempo de fermentação. Letras maiúsculas comparam tempos dentro de cada genótipo de sorgo.....	99
Figura 41. Índice de brotamento da levedura durante o período de 72hs, em mosto sintético e pre-tratado de bagaço de sorgo.....	100
Figura 42. Produção de Etanol ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam genótipos dentro de cada tempo de fermentação. Letras maiúsculas comparam tempos dentro de cada genótipo de sorgo.....	101
Figura 43. Produção de Ácido Acético ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam genótipos dentro de cada tempo de fermentação. Letras maiúsculas comparam tempos dentro de cada genótipo de sorgo.....	102
Figura 44. Produção de Glicerol ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam genótipos dentro de cada tempo de fermentação. Letras maiúsculas comparam tempos dentro de cada genótipo de sorgo.....	104
Figura 45. Representação gráfica da atividade da enzima celucast 1.5L.....	106
Figura 46. Perfil da hidrolise enzimática genótipo BRS508.....	107
Figura 47. Perfil da hidrolise enzimática genótipo BRS610.....	108
Figura 48. Perfil da hidrolise enzimática genótipo BD7605.....	108
Figura 49. Desdobramento de glicose ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam genótipos dentro de cada tempo de fermentação. Letras maiúsculas comparam tempos dentro de cada genótipo de sorgo.....	110
Figura 50. Desdobramento de celobiose ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e	

energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam tempos de fermentação. Letras maiúsculas comparam genótipos de sorgo.....	111
Figura 51. Desdobramento de arabinose ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam tempos de fermentação. Letras maiúsculas comparam genótipos de sorgo.....	112
Figura 52. Comparação entre os genótipos do consumo de xilose pela levedura PE-2.....	113
Figura 53. Comparação entre o tempo do consumo de xilose pela levedura PE-2.....	113
Figura 54. Viabilidade celular. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam tempos de fermentação. Letras maiúsculas comparam genótipos de sorgo.....	114
Figura 55. Brotamento. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam tempos de fermentação. Letras maiúsculas comparam genótipos de sorgo.....	115
Figura 56. Índice de viabilidade de brotos da levedura PE-2 durante o período de 24hs, em mosto hidrolisado enzimático de bagaço de sorgo.....	116
Figura 57. Índice de viabilidade de brotos da levedura PE-2 entre os genótipos de sorgo, em mosto hidrolisado enzimático de bagaço.....	116
Figura 58. Produção de Etanol ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam tempos de fermentação. Letras maiúsculas comparam genótipos de sorgo.....	117
Figura 59. Produção de Ácido Acético ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia (BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam tempos de fermentação. Letras maiúsculas comparam genótipos de sorgo.....	118
Figura 60. Produção de Glicerol ao longo do processo fermentativo. Interação entre genótipos de sorgo sacarino (BRS508), forrageiro (BRS610) e energia	

(BD7605) e tempo de fermentação. Letras minúsculas comparam tempos de fermentação. Letras maiúsculas comparam genótipos de sorgo.....	119
Figura 61. Resultados médios obtidos para os Teores de Nitrogênio, para os bagaços dos genótipos: BRS508, BRS610 e BD7605: In natura, Pré-tratado e após Hidrólise Enzimática.....	124
Figura 62. Resultados médios obtidos para os Teores de Potássio, para os bagaços dos genótipos: BRS508, BRS610 e BD7605: In natura, Pré-tratado e após Hidrólise Enzimática.....	125
Figura 63. Resultados médios obtidos para os Teores de Cálcio, para os bagaços dos genótipos: BRS508, BRS610 e BD7605: In natura, Pré-tratado e após Hidrólise Enzimática.....	126
Figura 64. Resultados médios obtidos para o Teor de Magnésio, para o bagaço do sorgo BRS508: In natura, Pré-tratado e após Hidrólise Enzimática...	127
Figura 65. Resultados médios obtidos para o Teor de Magnésio, para o bagaço do sorgo BRS610: In natura, Pré-tratado e após Hidrólise Enzimática...	127
Figura 66. Resultados médios obtidos para o Teor de Magnésio, para o bagaço do sorgo BD7605: In natura, Pré-tratado e após Hidrólise Enzimática....	128
Figura 67. Resultados médios obtidos para o Teor de Zinco, para o bagaço do sorgo sacarino: In natura, Pré-tratado e após Hidrólise Enzimática.....	129
Figura 68. Resultados médios obtidos para o Teor de Zinco, para o bagaço do sorgo forrageiro: In natura, Pré-tratado e após Hidrólise Enzimática.....	129
Figura 69. Resultados médios obtidos para o Teor de Zinco, para o bagaço do sorgo biomassa: In natura, Pré-tratado e após Hidrólise Enzimática.....	130
Figura 70. Média geral para o PCS (kcal.kg-1) para os genótipos BRS508, BRS610 e BD7605 in natura, pré-tratado e após hidrolise enzimática.....	133
Figura 71. Média geral para PCI (kcal.kg-1) para os genótipos BRS508, BRS610 e BD7605 in natura, pré-tratado e após hidrolise enzimática.....	133
Figura 72. Média geral para o PCU (kcal.kg-1) para os genótipos BRS508, BRS610 e BD7605 in natura, pré-tratado e após hidrolise enzimática.....	134

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Diferenças entre celulose e hemiceluloses	35
Tabela 02. Principais fatores que influenciam a hidrólise enzimática da celulose e sua consequência (marcadas de 1-5) na hidrólise e na modelagem do processo....	54
Tabela 03. Matriz do planejamento fatorial 2^3 para avaliação da influência das variáveis: tempo, temperatura e concentração de ácido dos bagaços de sorgo.....	65
Tabela 04. Composição química dos bagaços in natura de sorgo Forrageiro, Sacarino e Biomassa em comparação a resultados obtidos por outras pesquisas....	80
Tabela 05. Rendimento mássico das biomassas dos genótipos de sorgo após os testes de pré-tratamento.	84
Tabela 6. Rendimento mássico das biomassas dos genótipos de sorgo após o Scaling de pré-tratamento.	88
Tabela 7. Composição química dos bagaços de sorgo in natura e pré-tratado para os genótipos sacarino, forrageiro e biomassa.....	89
Tabela 8. Resultado apresentado pela estirpe LJ03 quando inoculada no meio de crescimento em diferentes temperaturas.	91
Tabela 9. Resultado apresentado pela estirpe LJ03 quando inoculada no meio basal de fermentação nas diferentes fontes de carbono.	92
Tabela 10. Alinhamentos obtidos para a estirpe LJ03 comparada com a levedura <i>Pichia kudriavzevii</i> pertencente a Coleção de microrganismos CBS6520, utilizando pequena subunidade de RNA ribossomal do gene, sequencia parcial, Espaçador transcrito interno 1, 5.....	93
Tabela 11. Composição química dos bagaços de sorgo in natura, pré-tratado e resíduo de hidrolise.....	104
Tabela 12. Produtividade de etanol de primeira e segunda geração.	121

1. INTRODUÇÃO

A atual crise energética requer soluções urgentes, para garantir a demanda e a sustentabilidade mundial de energia.

A utilização do etanol tem-se destacado pelo crescente consumo, impulsionado pelo aumento do uso de veículos automotivos leves “*flex-fuel*”, além do incremento em mistura com a gasolina e da produção de biodiesel, no qual ele é utilizado no processo de transesterificação. Neste sentido, as perspectivas do aumento de produção devido a demanda nacional e internacional é realidade promissora (FERREIRA, 2015).

O etanol é produzido por via bioquímica, em um processo fermentativo, utilizam-se matérias-primas renováveis que contenham carboidratos passíveis de serem transformadas em álcool, como a glicose, sacarose, frutose, amido, dentre outras, denominando-se etanol de primeira geração (E1G).

Neste sentido o etanol é produzido prioritariamente a partir de grãos de milho e/ou sorgo nos Estados Unidos, que é o maior produtor mundial, seguido pelo Brasil, que utiliza predominantemente a cana-de-açúcar, responsável pela produção de 99% do etanol anidro e hidratado na safra 2016/17. Deve-se destacar que nos últimos anos outras matérias-primas como o milho (grão) e sorgo têm surgido como alternativa promissora.

Para suprir as necessidades de consumo de biocombustíveis estabelecidas para 2025, o Brasil precisará avançar na moagem de cana, na modernização e integração das produções de etanol de primeira e segunda geração nas usinas existentes (UNCTAD, 2016). Com este propósito, é de fundamental importância o desenvolvimento de estudos com culturas alternativas e complementares a cana-de-açúcar, que possam fornecer matérias-primas adequadas, ampliando o período de processamento industrial, com custos e eficiências compatíveis com o mercado (MASSON et al., 2015).

Dentre as alternativas promissoras para a produção do etanol destaca-se o sorgo, que pode atuar como uma matéria-prima complementar a cana-de-açúcar, tanto do ponto de vista agrônomo quanto industrial. O sorgo sacarino é constituído

de colmos ricos em açúcares fermentescíveis, amido (armazenados nos grãos), além do material lignocelulósico presente no bagaço (QUILHÓ, 2011).

A produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos, denominado etanol de segunda geração (E2G) é uma tecnologia desafiadora, pela necessidade de se dominar o conhecimento e os processos de transformação da biomassa em açúcares fermentescíveis, os quais precisam ser fermentados a custos compatíveis com o mercado (CHEN e FU, 2016).

Os materiais lignocelulósicos apresentam estrutura complexa e compacta sendo necessário submetê-los a pré-tratamentos físicos e/ou químicos antes da hidrólise. Este processo é um passo-chave na via da remoção/modificação da lignina e hemiceluloses, redução da cristalinidade da celulose e aumento da porosidade do material, tornando-o mais passível da hidrólise enzimática (LOSORDO et al., 2016).

O pré-tratamento é uma das etapas mais caras do processo de conversão da biomassa em açúcares fermentescíveis. Segundo Rocha (2014), diversas pesquisas têm sido realizadas buscando o desenvolvimento do pré-tratamento mais eficiente e econômico, capaz de disponibilizar a maior quantidade de açúcares possível (pentoses e hexoses). De modo semelhante, destacam-se a seleção de microrganismos que apresentem habilidade para fermentar pentoses e/ou hexoses (KIM et al., 2013), assim como a integração de processos que buscam minimizar o número de operações unitárias e reduzir a demanda energética (ERDEI et al., 2013).

O desafio da produção economicamente viável do E2G baseia-se em determinar a melhor opção de disponibilizar a glicose a partir da hidrólise da celulose em termos de custo global, rendimento glicosídico e fermentabilidade do hidrolisado, visando perfeita integração energética do processo, com aproveitamento dos resíduos, hemicelulose e lignina (RABELO, 2010).

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a potencialidade de 3 genótipos de sorgo (sacarino, forrageiro e biomassa) para produção de etanol 2G, com ênfase na caracterização do bagaço antes e após pré-tratamento ácido e hidrólise enzimática, e na fermentação dos hidrolisados por duas leveduras, sendo a LJ3, fermentando as pentoses e as hexoses com *Saccharomyces cerevisiae* (PE-2). Avaliou-se a composição dos bagaços dos 3 genótipos de sorgo em relação aos nutrientes, além

da análise de microscopia eletrônica para visualização das biomassas após os tratamentos realizados.

5.0 CONCLUSÕES

Considerando-se as condições em que os experimentos foram desenvolvidos e a metodologia empregada, os resultados obtidos permitem concluir que:

- A adequação do pré-tratamento com o tempo de 20 minutos, 120⁰C, 0,5% (v/v) de H₂SO₄, em reator de 40L, possibilitou a remoção da fração hemicelulósica de modo eficiente, produzindo hidrolisado com alta concentração de xilose de 97g/L para o BRS508, 91g/L BRS610 e 81 g/L para o BD7605.
- Para fermentação do licor rico em pentoses utilizou-se a levedura LJ03 que foi identificada como *Pichia kudriavzevii*.
- *P. kudriavzevii* foi eficiente em desdobrar as pentoses e hexoses, resultando em eficiência calculada final de etanol de 26,96% (sacarino), 18,95% (forrageiro) e 14,62% (biomassa) após 72 horas.
- A hidrólise enzimática foi eficiente possibilitando a fermentação com PE-2 por 24 horas, produzindo 11,83; 12,28 e 7,79g etanol/kg bagaço m.s., para os genótipos sacarino, forrageiro e energia, respectivamente;
- Nutrientes como C, H, N, O, P, K, S, Mg, Fe, Zn devem ser fornecidos pelo material que será utilizado para hidrólise enzimática após o pré-tratamento, e ou adicionados ao mosto.
- O poder calorífico (PCS, PCI e PCU) dos resíduos gerados na produção de etanol 2G, aumentou com o desenvolvimento do processo, sendo que ao final apresentaram 3811; 3902 e 3953Kcal.kg⁻¹ respectivamente para o sorgo sacarino, forrageiro e biomassa.
- A análise do processo de produção de etanol 2G empregado caracterizou que a conversão em etanol dos bagaços de sorgo sacarino, sorgo forrageiro e biomassa, resultaram em rendimento total de 59,38; 45,33 e 25,53 litros de

etanol.t⁻¹ de m.s. respectivamente, e produção de 1.301,48, 964,82 e 805,52 litros de etanol por hectare respectivamente.

- O genótipo BRS508 (sacarino) foi o que apresentou maior produção de etanol de segunda geração em comparação aos BRS610 (forrageiro) e BD7605 (Biomassa).

6. REFERÊNCIAS

ADNEY, B., BAKER, J. Measurement of cellulase activities. Chemical analysis and testing task- laboratory analytical procedure. **National Renewable Energy Laboratory (NREL)**, LAP-006, 1996.

AGBOR, V. B., CICEK, N., SPARLING, R., BERLIN, A., LEVIN, D. B., 2011. "Biomass pretreatment: fundamentals toward application". **Biotechnology Advances**, v.29, pp. 675-685.

ALTSCHUL, S.F., MADDEN, T.L., SCHAFFER, A.A., ZHANG, J., ZHANG, Z., et al. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acid Res.** 25, 3389–3402.

ALVES, R.E. **Caracterização de fibra lignocelulósicas pré-tratadas por meio de técnicas espectroscópicas e microscópicas ópticas de alta resolução.** 115f. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais), Instituto de Química e Física de São Carlos, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

AMORIM, H. V. **Fermentação alcoólica:** ciência & tecnologia. Fermentec: Piracicaba, 2005. 448 p.

ANDERSEN, NATALIJA. **Enzymatic Hydrolysis of Cellulose - Experimental and Modeling Studies.** BioCentrum-DTU, Technical University of Denmark, Denmark, 2007. Tese de doutorado.

ARANTES, T.M. (2009). Uso de soluções hidrotrópicas na deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar. 145p. dissertação (Mestrado). Instituto da química de São Carlos. Universidade de São Paulo. São Carlos, 2009.

ASSUMPÇÃO, Samira Maria Nonato de. **Pré-tratamento químico combinado do bagaço da cana visando a produção de etanol de segunda geração**. Dissertação (mestrado). 2015. 99 p. Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2015.

BALAT, M., BALAT, H., OZ, C. 2008. "Progress in Bioethanol Processing", **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 34, pp. 551-573.

BALOGH, D.T (1989). **Efeito de solvente na obtenção de ligninas pelo processo organosolv**. 110p. Dissertação (Mestrado)- Instituto de Física e Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1989.

BANERJEE, D. et al. Enhanced saccharification efficiency of lignocellulosic biomass of mustard stalk and straw by salt pretreatment. **Industrial Crops and Products**, v. 80, p. 42–49, 2016.

BARCELOS, C. A. **Aproveitamento das frações sacarínea, amilácea e lignocelulósica do sorgo sacarino [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] para a produção de bioetanol**. 2012. 334 f. Tese (Doutorado em Ciências (DSc). Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2012.

BASTOS, V.D. **Etanol, álcoolquímica e Biorrefinarias**, 2007. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br>. Acesso em: 12 de dezembro de 2016.

BATISTA, V. A. P., **Avaliação bioenergética de sorgos biomassa, sacarino e forrageiro**. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – Minas Gerais. 68p. 2016.

BATISTA-GARCÍA, R. A.; SÁNCHEZ-CARBENTE, M. del R., TALIA Paola, JACKSON, S. A.; O'LEARY N. D.; DOBSON A. D. W., FOLCH-MALLOL, J. L. From lignocellulosic metagenomes to lignocellulolytic genes: trends, challenges and future

prospects. Online Library (wileyonlinelibrary.com); **Biofuels, Bioprod. Bioref.** 10:864–882 (2016)

BEHERA, S., ARORA, R., NANDHAGOPAL, N., KUMAR, S. 2014. “Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass”, **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, pp. 91–106.

BELAFI-BAKO, K., KOUTINAS, A., NEMESTOTHY, N., GUBICZA, L. Y., WEBB, C. Continuous enzymatic cellulose hydrolysis in a tubular membrane bioreactor. **Enzyme and Microbial Technology**, 38:155-161, 2006.

BÉLAFI-BAKÓ, K.; GUBICZA, L.; KISS, K.; NEMESTÓTHY, N. Hydrolysis of pectin by *Aspergillus niger* polygalacturonase in a membrane bioreactor. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 438-442, 2006.

BHALLA, A. et al. Improved lignocellulose conversion to biofuels with thermophilic bacteria and thermostable enzymes. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 751–759, 2013.[bitstream/item/68399/1/brs-508.pdf](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.05.088)>. Acesso em: 08 de mai. de 2016.

BOLONHEZI, D., CARDOSO, B.M.V., CARVALHO, E.V., SOUZA JR., J.G.A., GARCIA, J.C. Características tecnológicas de sorgo sacarino e biomassa em diferentes estádios fenológicos. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**, Jaboticabal, v. 7, p.47-51, 2015. Suplemento.

BOMMARIUS, A. S. et al. Cellulase kinetics as a function of cellulose pretreatment. **Metabolic Engineering**, v. 10, n. 6, p. 370–381, 2008

BORÉM, A.; PIMENTEL, L.; PARRELLA, R. **Sorgo do plantio à colheita**. Viçosa: UFV, v. 1, 2014.

BRETT, C., WALDON, K. (1996). Cell wall architecture and the skeletal role of the cell wall. In: **Physiology and biochemistry of plant cell walls**, Blackk, M. and Charlwood, B. (Eds), Chapman and Hall, 2nd edition, 44-74.

BURNQUIST, Heloisa Lee. Porque o Brasil deve apoiar a internacionalização do etanol. **Revista Opiniões**, 2007.

BUSSAMRA, B.C. **Melhoramento de coquetéis enzimáticos para a hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). 2014. 124f. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

CAMPBELL, M.K. Bioquímica, Artmed Editora, 3ª ed., Porto Alegre. 2000.

CARDONA, C. A., QUINTERO, J. A., PAZ, I. C., 2010, "Production of Bioethanol from Sugarcane Bagasse: Status and Perspectives", **Bioresource Technology**. v. 101, pp. 4754-4766.

CARRILLO, M.A. et al. Washing sorghum biomass with water to improve its quality for combustion. **Fuel**, London, v.116, p. 427-431, 2014.

CARVALHO, D.J. **Geração de bioeletricidade em usina sucroalcooleira utilizando bagaço, palha de cana e sorgo biomassa**. Campinas, SP, 2015. Tese (doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, 2015. 154 p.

CARVALHO, W. **Estudos da obtenção de xilitol em hidrolisado de bagaço de cana com células imobilizadas em gel de alginato de cálcio**. 2004. 110p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial), Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2004.

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

CASTRO, F. M. R.; BRUZI, A. T.; NUNES, J. A. R.; PARRELLA, R. A. C.; LOMBARDI, G. M. R.; ALBUQUERQUE, C. J. B.; LOPES, M. Agronomic and Energetic Potential of Biomass Sorghum Genotypes. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 1862-1873, 2015.

CASTRO, Fernanda Maria Rodrigues. **Potencial Agrônômico e Energético de Híbridos de Sorgo Biomassa**. Dissertação (mestrado acadêmico). 2014. 80 p. Universidade Federal de Lavras, 2014.

CHANDEL, A.K; KAPOOR, R.K; SINGH, A; KUHAD, R.C. Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production. **Bioresource Technology**, v.98 n.10, p1947-1950, 2014.

CHEN, H. FU, X. Industrial technologies for bioethanol production from lignocellulosic biomass. **Renew Sustain EnergyRev** 57:468–78, 2016.

CHEN, W., XU, Y., HWANG W., WANG, J. B., 2011, "Pretreatment of rice straw using an extrusion/extraction process at bench-scale for producing cellulosic ethanol", **Bioresource Technology**, v. 102, pp. 10451-10458.

CHUM, H. L.; DOUGLAS, L. J.; FEINBERG, D.A.; SCHROEDER, H.A. (1985). **Evaluation of pretreatments of biomass for enzymatic hydrolysis of cellulose**. NREL, 1985. 77p.

COELHO, A.M.; CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A. Rendimento de milho no Brasil: Chegamos ao máximo? In: **SIMPÓSIO ROTAÇÃO SOJA/MILHO NO PLANTIO DIRETO**, 3., Piracicaba, 2002. CD-Rom (In press)

CORSINO, M.C. **Embrapa retoma produção de sorgo sacarino: A cultivar é uma opção na entressafra da cana-de-açúcar**. 2011. Disponível em:<<http://www.cpt.com.br/noticias/embrapa-retoma-producao-de-sorgo-sacarino>>. Acesso em: 10 de nov. de 2016.

COTTON INCORPORATED, 2011. Disponível em: <http://www.cottoninc.com/corporate/About-Cotton-Incorporated/Cotton-Incorporated-annual-report/2011-Annual-Report/life-cycle-assessment.cfm>. Acesso: 02/12/2016.

DA SILVA, R., FRANCO, C.M.L, GOMES, E. Pectinases, hemicelulases e celulases, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: Revisão. **Boletim da SBCTA**, 31 (2):249-260, 1997.

DE MESQUITA, J. P. **Nanocristais de celulose para preparação de bionanocompósitos com quitosana e carbonos nanoestruturados para aplicações tecnológicas e ambientais**. 2012. 189p. Tese (Doutorado em Ciências-Química), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

DEN HAAN, R. et al. Hydrolysis and fermentation of amorphous cellulose by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. **Metabolic Engineering**, v. 9, n. 1, p. 87–94, 2007.

DENG, X.X., HO, N.W. Xylulokinase activity in various yeasts including *Saccharomyces cerevisiae* containing the cloned xylulokinase gene. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 24-25, p. 193-199, 1990

DIEN, B.S., SARATH, G., PEDERSEN, J. F., SATTTLER, S.E., CHEN, H., FUNNELL-HARRIS, D.L., NICHOLS, N.N., COTTA, M.A. Improved Sugar Conversion and Ethanol Yield for Forage Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) Lines with Reduced Lignin Contents. **Bioenerg. Res.**, v. 2, p.153–164, 2009.

DINIZ, G. M. M.. **Produção de Sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) Aspectos Gerais**. 2010. 23f. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

DINIZ, J., CARDOSO, A. L., STAHL, J. A., VILLETTI, M. A., MARTINS, A. F. Poder calorífico da casca de arroz, caroço de pêssego, serragem de eucalipto e de seus produtos de pirólise. **Revista Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 25-32, 2004.

DIPAP - Diretoria de Pesquisa e Desenvolvimento Rural. **Aspectos gerais do cultivo do sorgo para o semiárido alagoano**. 2010. 5p. Disponível em: Acesso em: 18 dez. 2016.

EICHHORN, S. J., DUFRESNE, A., ARANGUREN, M., MARCOVICH, N. E., CAPADONA, J. R., ROWAN, S. J., 2010. Review: Current International research into cellulose nanofibres and nanocomposites. **Journal of Materials Science** 45, 1-33.

ELIASSON, A., CHRISTENSSON, C., WAHLBOM, C.; HAHN-HÄGERDAL, B. (2000). Anaerobic Xylose Fermentation by Recombinant *Saccharomyces cerevisiae* Carrying XYL1, XYL2, and XKS1 in Mineral Medium Chemostat Cultures. **Applied and Environmental Microbiology**, 66, 3381-3386.

EMBRAPA MILHO E SORGO. (2005). **Sistemas de Produção**, 2. Cultivo do sorgo – Plantio. ISSN 1679-012X. Versão Eletrônica - 4º ed. Set. 2008. Disponível em: Acesso em: 11 jun. 2016.

EMBRAPA MILHO E SORGO. **BRS508. O sorgo sacarino com alto teor de açúcar no caldo**. 2012. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/>

EMBRAPA. **Indicações de Aspectos Tecnológicos sobre o Bioetanol de Matéria-prima Amilácea**. 2009. Disponível em: <<http://www.cnptia.embrapa.br/content/09409-indicacoesde-aspectos-tecnologicos-sobre-bioetanol-de-materia-prima-amilacea.html> >. Acesso em: 12 de set. de 2016.

EMBRAPA. **Sorgo sacarino “a safrinha da cana-de-açúcar**. 2010. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/484735> >. Acesso em: 10 de set. de 2016

ERDEI, B.; HANCZ, D.; GALBE, M.; ZACCHI, G. SSF steam-pretreated wheat straw with the addition of saccharified of fermented wheat meal in integrated bioethanol production. **Biotechnology for Biofuels**, p.1-14, 2013.

ERIKSSON, I. et al. Fiber swelling favoured by lignina softening. **Wood Science and Technology**, v. 25, p. 135-144, 1991.

FALKOSKI, D. L. et al. Characterization of cellulolytic extract from *Pycnoporus sanguineus* PF-2 and its application in biomass saccharification. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, n. 6, p. 1586–1603, 2012.

FAPESP. Diego Freire. **Brasil pode produzir 10 bi de litros de etanol de segunda geração até 2025**. 19 de abril de 2016. Acesso em: 29 Dez. 2016. Disponível em: http://agencia.fapesp.br/brasil_pode_produzir_10_bi_de_litros_de_etanol_de_segunda_geracao_ate_2025_diz_onu/23060/

FENGEL, D.; WEGENER, G., 1989. **Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions**, Berlin/New York: Walter de Gruyter. 613p.

FERREIRA, L.L. **Isolamento e caracterização de leveduras fermentadoras de D-xilose e produtoras de xilanases associadas à madeira e bagaço de cana em decomposição**. 2010. 39f. Monografia (Graduação em Microbiologia), Instituição de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas, Belo Horizonte, 2010.

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

FIGUEIREDO, C.B.; FARIAS FILHO, J.R. Os impactos sociais dos biocombustíveis. In: **Congresso nacional de excelência em gestão**, 5. 2009. Niterói-RJ. Disponível em: <www.excelenciaemgestao.org>. Acesso em: 20 de novembro de 2015.

FONTES, M. M; SILVA, B. A; DANTAS, J.P; SILVEIRA, D. C; CAVALCANTI, M. T. Caracterização físico-químico do melado de sorgo granífero sacarino [*Sorghum bicolor* (L) Moench]. **Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)** v.6, n.1, p. 216 – 219, 2011.

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

FREITA, L. A, COSTA, G.H.G., MASSON, I. S., FERREIRA, O.E., MUTTON, M.A., & MUTTON, M.J.R.. Chemico-technological parameters and maturation curves of sweet sorghum genotypes for bioethanol production. **African Journal of Agricultural Research**, 9(50), 3638-3644, 2014.

FREITA, L. A. **Avaliação tecnológica e microbiológica da fermentação etanólica de caldo de sorgo sacarino**. 2013. 70f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2013.

GHOSE, T.K. Measurement of cellulose activities. **Pure Appl. Chem.**, 59:257-268, 1987.

GIESE, E. et al. **Prospects for the bioethanol production from sugarcane feedstock: focus on Brazil**: Nova Science Publishers, New York, NY, USA 2011.

GOSHADROU A., KARIMI K., TAHERZADEH M. J. (2011) Bioethanol production from sweet sorghum bagasse by *Mucor hiemalis*. **Industrial Crops and Products**, 34: 1219-1225.

HARGER, C.; SPRADA, D. ; HIRATSUKA, E. Amilase Fúngica. In: **Bioquímica das Fermentações**, 56 p. 1982.

HON, D. N. S., SHIRAISHI, N. Wood and cellulosic chemistry. New York: Marcel Dekker, inc. 1032 p, 1991.

HORST, D. J. **Avaliação da produção energética a partir de ligninas contidas em biomassas**. Ponta Grossa: PR, 2013. Dissertação (mestrado), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2013. 106 p.

ISONO, N.; HAYAKAWA, H.; USAMI, A.; MISHIMA, T.; HISAMATSU, M. A comparative study of ethanol production by *Issatchenkia orientalis* strains under stress conditions. **J. of Bioscience and Bioengineering**, v.113, n.1, p76-78, 2012.

JEFFRIES, T. W. (2006). Engineering yeasts for xylose metabolism. **Current Opinion in Biotechnology**, 17, 320-326.

JEFFRIES, T. W.; GRIGORIEV, I. V.; GRIMWOOD, J.; LAPLAZA, J. M.; AERTS, A.; SALAMOV, A.; RICHARDSON, P. M. (2007). Genome sequence of the lignocellulose-bioconverting and xylose-fermenting yeast *Pichia stipitis*. **Nature Biotechnology**, 25, 319-326.

JENKINS B.M.; BAKKER, R.R.; WEI, J.B. On the properties of washed straw. **Biomass and Bioenergy**; v.10 n. 4, p. 177-200, 1996.

JEON, T. et al. Cellulase digestibility of pretreated biomass is limited by cellulose accessibility. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 98, n. 1, p. 112-122, 2007.

JÓVÉR, J. Evaluation of sweet sorghum and sudangrass varieties by the viewpoint of bioethanol production. **Agrártudományi Közlemények**, v.59, p. 57-61, 2014.

KIM, S. R.; PARK, Y. C.; JIN, Y. S.; SEO, J.H. Strain engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for enhanced xylose metabolism. **Biotechnology Advances**, v.31, p. 851-861, 2013.

KLEMM, D. HEUBLEIN, B., FINK, H., BONH, A. 2005. CELLULOSE: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie-International**. edition 44, 3358-3393.

LAIDLER, K.J. **Introduction to the Chemistry of Enzymes**. New York: McGraw-Hill Book Company Inc., 1954. 208 p.

LANDAU, E. C.; SANS, L. M. A. Clima. In: RODRIGUES, J. A.S. (Ed.). **Cultivo do sorgo**. 5. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de produção, Acesso em: 25 de set. de 2016.

LARSSON, P.T., WICKHOLM, K., IVERSEN, T.A CP/MAS ¹³C NMR investigation of molecular ordering in celluloses. *Carbohydr. Res.* 302: 19-25, 1997.

LEE, S.S.; ROBINSON, F.M.; WONG, H.Y. Rapid determination of yeast viability. **Biotechnology Bioengineering Symposium**, n.11, 1981.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2015, 839 p.

LI, J., LI, S., HAN, B., YU, M., LI, G., JIANG, Y. A novel cost-effective technology to convert sucrose and homocelluloses in sweet sorghum stalks into ethanol. **Biotechnology for Biofuels** v. 6:174-185, 2013.

LIAO, W.; LIU, Y.; WEN, Z.; FREAR, C.; CHEN, S. Studing the effects of reaction conditions on components of dairy manure and celulose accumulation using dilute acid treatment. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1992-1999, 2007.

LIISA, J. et al. Enzyme and Microbial Technology Cellulase – lignin interactions — The role of carbohydrate-binding module and pH in non-productive binding. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 53, n. 5, p. 315–321, 2013.

LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIN, H.V. Produção de etanol. In: **Biotecnologia**. São Paulo: Editora. Edgar Blucher, 2001, v.3, p.1-43.

LODDER, J. **The yeasts**: a taxonomic study. Amsterdam: North Holland Publishing, 1970. 1385 p.

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

LOSORDO Z.; MCBRIDE J.; VAN ROOYEN, J.; WENGER, K.; WILLIES, D.; FROEHLICH, A.; MACEDO, I. C.; LYND, L. R.. Cost competitive second generation ethanol production from hemicellulose in a Brazilian sugarcane biorefinery. Online Library (wileyonlinelibrary.com); **Biofuels, Bioprod. Bioref.** 10:589–602. 2016.

MAEDA, R. N. et al. Enzymatic hydrolysis of pretreated sugar cane bagasse using *Penicillium funiculosum* and *Trichoderma harzianum* celulasas. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 5, p. 1196-1201, 2011.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. **Ecofisiologia da produção de sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa, 2003. (Comunicado técnico, 87).

MAGALHÃES, P. C.; DURAES, F.; SCHAFFERT, R. E. **Fisiologia da planta de sorgo**. Sete Lagoas (MG): Embrapa, 2000, 46 p. (EMBRAPA – CNPMS (CircularTécnica, 3).

MAGALHÃES, R. T.; GONÇALVES, L. C.; BORGES, I.; RODRIGUES, J. A. S.; FONSECA, J. F. Produção e composição bromatológica de vinte e cinco genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **Arq. Bras. Med. Vet Zoo**, v, 62, p.747-751, 2010.

MAITAN-ALFENAS, G. P.; VISSER, E. M.; GUIMARÃES, V. RIA M. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: Converting food waste in valuable products. **Current Opinion in Food Science**, v. 1, n. 1, p. 44–49, 2015.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 319p. 1997.

MANSFIELD, S. D., MOONEY, C., SADDLER, J. N. Substrate and enzyme characteristics that limit cellulose hydrolysis. **Biotechnonology Progress**, v. 15, p. 804-816, 1999.

MARABEZI, K. **Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de lignina e holocelulose em amostras de bagaço e palha de cana-de-açúcar**. 2009. 135f. Dissertação (Mestrado em Ciências Físico-Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

MARTINS, L.F. 2005. **Caracterização do complexo celulasico de *Penicillium echinulattum***. 121p. Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

MARTON, J. M. **Avaliação dos diferentes carvões ativados e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana de açúcar para a obtenção biotecnológica de xilitol**. 105p, 2002, Dissertação de Mestrado - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2002.

MASSON, I. dos S. **Produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar**. 2013. 49f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2013.

MASSON, I. S; COSTA, G. H. G; ROVIERO, J.P; FREITA, L. A; MUTTON, M. A.; MUTTON, M. J. R. Produção de etanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar. **Cienc. Rural**, vol.45 no 9, Santa Maria, Sept. 2015.

MATSUSHIKA, A., INOUE, H., KODAKI, T.; SAWAYAMA, S. (2009). Ethanol production from xylose in engineered *Saccharomyces cerevisiae* strains: current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 84, 37-53.

MAW, M.J.W., HOUX III, J.H., FRITSCHI, F.B. Sweet sorghum ethanol yield component response to nitrogen fertilization. **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 43-49, 2016.

MELANDER, C., BENGTSSON, M., SCHAGERLOF, H., TJERNELD, F., LAURELL, T. Y., GORTON, L. Investigation of micro-immobilised enzyme reactors containing endoglucanases for eficiente hydrolysis of cellodextrins and cellulose derivatives. **Analytica Chimica Acta**, 550: 182-190, 2005.

MILLER, G.L. Use of de dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v.31, n.3, p.426-428, 1959.

MONTANARI, R.; MARQUES JUNIOR, J.; CAMPOS, M. C. C.; SOUZA, Z. M.; CAMARGO, L. A. Caracterização mineralógica de Latossolos em diferentes feições do relevo na região de Jaboticabal, SP. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, p. 191-199, 2010.

MOON, R. J., MARTINI, A., NAIRN, J., SIMONSEN, J., YOUNGBLOOD, J., 2011. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews** 40, 3941-3994.

MOONEY, C. A. et al. The effect of initial pore volume and lignina contente on the enzymatic hydrolysis of softwood. **Bioresource technology**, v. 64, p. 113-119, 1998.

MORO, Mariana Kuster. **Pré-tratamento da biomassa de cana-de-açúcar por extrusão com dupla-rosca**. 2015. 119f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

MOSIER, N., WYMAN, C., DALE, B., ELANDER, R., 2005, "Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass". **Bioresource Technology**, v.96, pp. 673-686.

MURRAY, S. C.; SHARM, A.; ROONEY, W. L.; KLEIN, P. E.; MULLET, J. E.; MITCHELL, S. E.; KRESOVICH, S. Genetic Improvement of Sorghum as a Biofuel Feedstock: I. QTL for Stem Sugar and Grain Nonstructural Carbohydrates. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 2165-2179, 2008.

MUSSATO, S. L., ROBERTO, I. C., Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: a review. **Bioresource Technol.** 93, 1-10, 2004.

NAKAJIMA, M. et al. Identification, cloning, and characterization of b-glucosidase from *Ustilago esculenta*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 93, n. 5, p. 1989–1998, 2012.

NAKASU, P. Y. S. et al. Acid post-hydrolysis of xylooligosaccharides from hydrothermal Monografia de TCC – Química – Bacharelado – UFSJ - 2016 21 pretreatment for pentose ethanol production. **Fuel**, v. 185, p. 73–84, 2016.

NAKATANI, T. et al. Micropore structure of wood: change in micropore structure accompanied by delignification. **Journal of Wood Science**, v.54, p. 252-255, 2008.

NEUMANN, M.; RESTLE, J.; ALVES FILHO, D. C.; BERNARDES, R. A. C.; ARBOITE, M. Z.; CERDOTESE, L.; PEIXOTO, L. A. de O. Avaliação de diferentes híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor*, L. Moench) quanto aos componentes da planta

e silagens produzidas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.31, n.1, p.302-312, 2002

O'SULLIVAN, A.C. Cellulose: the structure slowly unravels. **Cellulose**, 4:171-207, 1997.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise Enzimática De Biomassa: revisão. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1549–1558, 2010.

OHGREN, K.; BURA, R.; SADDLER, J.; ZACCHI, G.; Effect of hemicellulose and lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover. **Bioresource Technology**, 98:2503-2510, 2007.

OKSMAN e SAIN (ed); SAIN, M. (ed), 2005. Cellulose Nanocomposites, Processing, Characterization and Properties, **ACS symposium series**, 938.

OLIVEIRA, M. C. F.; PAGNOCCA, F. C. Aplicabilidade de meios seletivos empregados nas indústrias de cervejarias à detecção de leveduras selvagens em unidades sucroalcoleiras. In: **SINAFERM**, 7. 1988, São Lourenço. Anais. São Lourenço, MG. 1988. p. 78-81.

OLIVEIRA, R. de P.; FRANÇA, A. F. de S.; RODRIGUES FILHO, O.; OLIVEIRA, E. R. de; ROSA, B.; SOARES, T. V.; MELLO, S. Características agronômicas de cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) sob três doses de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 1, p. 45-53, 2005.

PACHECO, T.F. **Produção de Etanol: Primeira ou Segunda Geração? Circular técnica 4**. Embrapa. Brasília, 1ª ed., n. 1, p. 1-6. ISSN 2177-4420. 2011.

PACHECO, T.F. **Fermentação alcoólica com leveduras de características floculantes em reator tipo torre com escoamento ascendente**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia. 2011.

PADUKONE, N. (1996). Advanced process options for bioethanol production. In: **Handbook on bioethanol production and utilization**. Wyman C. F. (Ed.), Taylor & Francis, Bristol, 315-323.

PAGNOCCA, F.C. **A busca por mais etanol**. Disponível na internet em: <http://www.rc.unesp.br/ib/ceis/mundoleveduras/2012/A%20busca%20por%20mais%20etanol.pdf>. Consulta em 20 de janeiro de 2017.

PALMQVIST, E, HAHN-HAGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. Inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource Technol.**, 74, 25-33, 2000.

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

PASTORE, T.C.M. (2004). **Estudos do efeito da radiação ultravioleta em madeiras por espectroscopias Raman (Ft-Raman), de reflectância difusa do infravermelho (DRIFT) e no visível (CIEL-L*a*b)**. 117p. Tese (Doutorado). Instituto de Química Universidade de Brasília. 2004.

PAULA, L.E.R., TRUGILHO, P.F., NAPOLI, A., BIANCHI, M.L. Characterization of Residues from Plant Biomass for Use in Energy Generation. **Cerne**, v.17, N. 2 p., 237-246, 2011.

PEREIRA FILHO, I. A.; PARRELLA, R. A. C.; MOEREIRA, J. A. A.; MAY, A., SOUZA, V. F., CRUZ, J. C. **Avaliação de Cultivares de Sorgo Sacarino [*Shorgum bicolor* (L.) Moench] em Diferentes Densidades de Semeadura Visando à Obtenção de Etanol**. Resumos expandidos. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012. Águas de Lindóia.

PÉREZ, A. F. H.; ARRUDA P. V. de, FELIPE, M. das G. de A. **Sugarcane straw as a feedstock for xylitol production by *Candida guilliermondii* FTI 20037**. Brazilian Journal of Microbiology. 47, 489-496. 2016.

PETERSEN; M.O; LARSEN, J.; THONSEM, M.H. Optimization of hydrothermal pretreatment of wheat straw for production of bioethanol at low water consumption without addition chemicals. **Biomass and Bioenergy**, v.33 p.834-840, 2009.

PITARELO, A. P. **Avaliação da susceptibilidade do bagaço e da palha de cana-de-açúcar à bioconversão via pré-tratamento a vapor e hidrólise enzimática**. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

PIVETTA, Raul Sobrinho. **Acúmulo de matéria seca e nutrientes de híbridos de sorgo sacarino em condições de safrinha em Selvíria-MS**. Dissertação (mestrado). 2014. 51 p. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2014.

PRADO, R. M. **Manual de nutrição de plantas forrageiras**. Jaboticabal, 2008. FUNEP. 413p.

PROMPT, A. H. **Análise da fermentação de glicose e xilose por leveduras *Spathaspora* isoladas de madeira em decomposição**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina. 2012. 84p.

QUILHÓ, F. T. L. **Produção de Etanol a partir de Materiais Lenho-celulósicos de Sorgo Sacarino: Revisão Bibliográfica**. 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Portugal, 2011.

RABELO, S. C. **Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração**. 447f, 2010. Tese (Doutorado em Engenharia Química).

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2010.

RAMIRES, E.C., Dufresne, A., 2011. **A Review of Cellulose Nanocrystals and Nanocomposites**, Tappi J. 9-15.

REIS, Alexandre Libanio Silva. **Perfil fermentativo de uma linhagem de *Dekkera bruxellensis* van der Walt (1964) a partir de hidrolisados lignocelulósicos e suas implicações na produção de etanol de segunda geração**. Tese (Doutorado). 2014. 94 p. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2014.

REN21, Key Findings. **Global Status Report REN**, Paris, pp.1–33, 2015.

Renzo Garcia Von Pinho, Ramon Correia de Vasconcelos.-Lavras: editora UFLA/FAEPE, 2002. 76p.: il. – (texto acadêmico)

RIBAS, P. M. Importância econômica. EMBRAPA MILHO E SORGO, 2008. Disponível

em:<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/fonteshtml/sorgo/cultivodosorgo_2ed/importancia.htm> Acesso em: 14 de novembro de 2016.

RICHARD, P., TOIVARI, M. H.; PENTTILÄ, M. (2000). The role of xylulokinase in *Saccharomyces cerevisiae* xylulose catabolism. **FEMS Microbiology Letters**, 190, 39-43.

ROCHA, G. J. M.; MARTÍN, C.; SILVA, V. F. N.; GÓMEZ, E. O.; GONÇALVES, A. R. Mass balance of pilot-scale pretreatment of sugarcane bagasse by steam explosion followed by alkaline delignification. **Bioresource Technology**, v.111, p. 477-452, 2012.

ROCHA, G. J. M.; NASCIMENTO, V. M.; SILVA, V. F. N. Da; CORSO, D. L. S.; GONÇALVES, A. R. Contributing to the environmental sustainability of the second generation ethanol production: Delignification of sugarcane bagasse with sodium

hydroxide recycling. **Industrial Crops and Products**, 2014, 59, 63. [CrossRef] 43 Li, Y.; Zhang, Y.; Zh

RODRIGUES, J.A.R. Do engenho á biorrefinaria. A usina de açúcar como empreendimento industrial para a geração de produtos bioquímicos e biocombustíveis. **Química Nova**, v. 34, p. 1242-1254, 2011.

ROSAS, J. Curso de Biología Molecular Y Celular. **Enzimas: Aceleradores de las Reacciones Químicas de los Seres Vivos**. 2003. Disponível em: <<http://interbiologia.virtualave.net>> Acesso em 20 set 2016.

ROSSELL, C. E. V et al. Saccharification of sugarcane bagasse for ethanol production using the organosolv process. **Sugar Industry/ Zuckerindustrie** 131, 2006.

SAHA, B. C.; BOTHAST, R. J. Pretreatment and enzymatic saccharification of corn fiber. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 76, p. 65-77, 1999.

SAHA, B. C.; ITEN, L. B.; COTTA, M. A.; Wu, Y. V. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to etanol. **Process Biochemistry**, v.4, p. 3693-3700, 2005.

SANTOS, Flávia Cristina dos; ALBUQUERQUE FILHO, Manoel Ricardo de; RESENDE, Álvaro Vilela de; OLIVEIRA, Antônio Carlos de; OLIVEIRA, Marciele Silva e GOMES Talita Camargos. Adubação nitrogenada e potássica na nutrição e na extração de macronutrientes pelo sorgo biomassa. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.14, n.1, p. 10-22, 2015.

SANTOS, R.M.Dos. **Extração e Caracterização de Nanocristais de celulose a partir de folhas de abacaxi**. Dissertação (mestrado). 2013. 80 p. Universidade Federal de Uberlândia, 2013.

SANTOS, T.N.; **Avaliação da biomassa de sorgo sacarino e palma forrageira para produção de etanol em Pernambuco**. 2012. 95 p. Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

SEWALT, V., GLASSER, W., BEAUCHEMIN, K. Lignin impact on fiber degradation III: reversal of inhibition of enzymatic hydrolysis by chemical modification of lignina and by additives. **J. Agri Food Chem**, 45:1823-1828, 1997.

SHARMA, S.; SHARMA, V.; KUILA, A. Cellulase production using natural medium and its application on enzymatic hydrolysis of thermo chemically pretreated biomass. **3 Biotech**, v. 6, n. 2, p. 139, 2016.

SILVA, A. S., TEIXEIRA, R. S., MOUTTA, R. O., FERREIRA-LEITÃO, V. S., BARROS, R. R. O., FERRARA, M. A., BON, E. P. S., 2013, "Sugarcane and Woody Biomass Pretreatments for Ethanol Production". In: Chandel, A. K., Silva, S. S. (eds), **Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass – Techniques, Applications and Commercialization**, 1 ed., chapter 3, Rijeka, Croatia, Intech.

SILVA, D.M.; MUSIAL, D.C; ALTMAYER, C.; VALENTINI, S.A. Obtenção de derivado de celulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar com potencial aplicação nas indústrias farmacêuticas e cosmética. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v.32, n.1, p. 41-45, 2011.

SILVA, O. de O. **Aproveitamento do bagaço de abacaxi (Ananas comosus L. Merrill) para produção biotecnológica de xilitol**. 142 f. 2011. Tese (Doctor Scientiae em ciência e tecnologia de alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

SILVA, R., HARAGUCHI, S. K., MUNIZ, E. C. and RUBIRA, A. F.. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, vol.32, n.3, p. 661-671, 2009.

SILVA, V. F. N. **Avaliação de parâmetros experimentais do fracionamento do bagaço de cana-de-açúcar na obtenção de etanol celulósico e lignina**. 2014. 145 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2014.

SINGHA, J., SUHAG, M., DHAKAC, A. 2015. "Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods: A review", **Carbohydrate Polymers**. v. 117, pp. 624–631.

SLUITER JB, CHUM H, GOMES AC, TAVARES RAP, AZEVEDO V, PIMENTA MTB, ET AL. **Evaluation of brazilian sugarcane bagasse characterization: an interlaboratory comparison study**. J AOAC Int 2016;99(3):579–85.

SORENSEN, T. H. et al. Temperature effects on kinetic parameters and substrate affinity of Cel7A cellobiohydrolases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 36, p. 22193–22202, 2015.

SOUZA, V. F.; **Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de sorgo sacarino**. 2011. 63 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba – MG, 2011.

SUN, Y., CHENG, J., 2002. "Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review". **Bioresource Technology**, v.83, pp. 1–11.

SZCZODRAK, J., FIEDUREK, J. Technology for conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. **Biomass and Bioenergy**, 10(5/6):367-375, 1996.

TABKA, M.G.; HERPOEL-GIMBERT, I.; MONOD, F.; ASTHER, M.; SIGOILLOT, J.C. Enzymatic saccharification of wheat straw for bioethanol production by a combined cellulose xylanase and feruloyl esterase treatment. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, p.897-902, 2006.

TEIXEIRA, A.M. et al. Intake and digestibility of sorghum (*Sorghum bicolor*, L. Moench) silages with diferente tannin contentes in sheep. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 43, n.1, p.14-19, 2014.

TENKANEN, M., NIKU-PAAVOLA, M.L.; LINDER, M.; VIIKARI, L. cellulase in food processing. In: **handbook of food enzymology**. NEW YORK. P 879-915.2003.

TRIVELIN, P.C.O.; SALATI, E.; MATSUI, E. Preparo de amostras para análise de ¹⁵N por espectrometria de massa (Boletim Técnico, 2). Piracicaba, CENA, 1973. 41p.

TUCKER, M. P.; KIM, K.H.; NEWMAN, M. M; NGUYEN, Q. A. Effects of temperature and moisture on dilute-acid steam explosion pretreatment of corn stover and cellulose enzyme digestibility. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 105-108, p. 165-177, 2003.

UNCTAD (2016). **Second generation biofuel markets: state of play, trade and developing country perspectives**. UNCTAD/DICT/TED/2015/8.

VAN DER WALT, J. P.; YARROW, D. Methodos for isolation maintenance, classification and identification of yeasts. In: KREGER-VAN RIJ, N. J. W. (Ed.) **The Yeasts: a taxonomy study**. 3. ed. Amesterdam: Elsevier Science Publishing, 1984. cap. 2, p. 45-104.

VARIZ, D.I.L.S. **Avaliação da biomassa de sorgo forrageiro para produção biotecnológica de xilitol**. 2011. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2011.

VIEIRA, Gustavo Ferraz de Arruda. **Variabilidade espacial de atributos químicos do solo sob pastagem em um sistema de produção de bovinos de corte**. 2014. 152 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Zootecnia. APTA/SAA, Nova Odessa.

VISSER, E. M. et al. Production and application of an enzyme blend from *Chrysosporthe cubensis* and *Penicillium pinophilum* with potential for hydrolysis of sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 587–594, 2013.

WYMAN, C. E. Twenty years of trials, tribulations and research progress in bioethanol technology - Selected key events along the way. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 91-3, 5-21, 2001.

XU, F.; SHI, Y.-C.; WU, X.; Theerarattananon, K.; Staggenborg, S.; Wang, D. Sulfuric acid pretreatment and enzymatic hydrolysis of photoperiod sensitive sorghum for ethanol production. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 2010.

YANG, B. et al. Enzymatic hydrolysis of cellulosic biomass. **Biofuels**, v.2, n.4, p.421-450, 2011.

ZAMORA, F. (2009). Biochemistry of Alcoholic Fermentation. In: V. Moreno-Arribas, & C. Polo (Eds.), **Wine Chemistry and Biochemistry** (Vol. Capítulo 1, pp. 3-26).

ZHOU, Z. et al. Kraft GL-ethanol pretreatment on sugarcane bagasse for effective enzymatic hydrolysis. **Industrial Crops and Products**, v. 90, p. 100–109, 2016.