



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO  
CLARO**



---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(MICROBIOLOGIA APLICADA)**

---

**EXTRAÇÃO DE HEMICELULOSE E AÇÚCARES FERMENTÁVEIS  
DO BAGAÇO, COLMO E FOLHA DO SORGO SACARINO**

**RODRIGO PAGANO MARTINS**

**RIO CLARO  
2020**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – RIO  
CLARO



---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(MICROBIOLOGIA APLICADA)**

---

**EXTRAÇÃO DE HEMICELULOSE E AÇÚCARES FERMENTÁVEIS  
DO BAGAÇO, COLMO E FOLHA DO SORGO SACARINO**

**RODRIGO PAGANO MARTINS**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada).

Orientador: Prof. Dr. Michel Brienzo

**RIO CLARO  
2020**

M386e                      Martins, Rodrigo Pagano  
                                  Extração de hemicelulose e açúcares fermentáveis do bagaço,  
                                  colmo e folha do sorgo sacarino / Rodrigo Pagano Martins. -- Rio  
                                  Claro, 2020  
                                  81 p. : il., tabs., fotos

                                  Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
                                  Instituto de Biociências, Rio Claro  
                                  Orientador: Michel Brienzo

                                  1. Biomassa. 2. Xilana. 3. Sorgo sacarino. 4. Pré-tratamento. 5.  
                                  Hidrólise enzimática. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de  
Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EXTRAÇÃO DE HEMICELULOSE E AÇÚCARES FERMENTÁVEIS DO BAGAÇO, COLMO E FOLHA DO SORGO SACARINO**

**AUTOR: RODRIGO PAGANO MARTINS**

**ORIENTADOR: MICHEL BRIENZO**

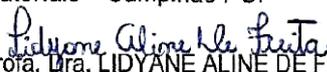
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), área: Microbiologia Aplicada pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. MICHEL BRIENZO  
Laboratório de Caracterização de Biomassa / IPBEN - Rio Claro



Profa. Dra. SIMONE COELHO NAKANISHI  
Laboratório Nacional de Biorrenováveis - LNBR / CNPEM - Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais - Campinas / SP



Profa. Dra. LIDYANE ALINE DE FREITA  
Pós-Doutoranda do Departamento de Microbiologia Aplicada a Agropecuária / Unesp Jaboticabal

Rio Claro, 05 de outubro de 2020

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho à  
minha esposa Camila e aos  
meus filhos Artur e Cecília.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pela força de vida que me faz prosseguir sempre, mesmo nos momentos mais difíceis.

À minha esposa Camila, o amor da minha vida, pelo companheirismo e dedicação que tem com a nossa família.

Aos meus pais Ambrósio e Izilda (*in memoriam*) pelo incentivo e ajuda nos estudos. Muitas saudades de você, mãezinha.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Michel Brienzo, pela oportunidade e por seu apoio e atenção em todos os momentos.

Aos colegas do Laboratório 6 - Jeferson, Carol, Bia, João, Manuel e especialmente ao Alison pela ajuda com as amostras do HPLC.

À UNESP pela oportunidade dada a mim através do convênio com o Centro Paula Souza.

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Aplicada, pelo ensejo.

Ao Instituto de Pesquisa em Bioenergia, pelo uso dos laboratórios.

Ao Centro Paula Souza, pela oportunidade e incentivo ao estudo.

À ETEC Deputado Ary de Camargo Pedroso, pela ajuda que possibilitou-me concluir todas as etapas do mestrado.

Enfim, a todos que tiveram alguma participação para a conclusão desta pesquisa, muito obrigado.

## EPÍGRAFE

*"Quando uma criatura humana desperta para um grande sonho e sobre ele lança toda a força de sua alma, todo o universo conspira a seu favor."*

*Johann Goethe*

## RESUMO

O sorgo sacarino é uma alternativa viável para a produção de etanol devido a sua grande produção de caldo e bagaço. O bagaço pode ser queimado para a produção de vapor e energia elétrica, porém, estudos mostram que existem aplicações mais importantes para essa biomassa e outras frações da planta. A estrutura lignocelulósica da biomassa pode ser desestruturada para disponibilizar seus principais componentes - celulose, hemicelulose e lignina. Esses componentes também podem ser hidrolisados até suas unidades formadoras. O presente estudo usou o bagaço, o colmo e a folha de sorgo sacarino e procurou determinar a influência de diferentes pré-tratamentos na extração de hemicelulose na forma de polissacarídeo (xilana) e monossacarídeo (xilose). A extração da xilana foi realizada utilizando-se métodos alcalinos com  $\text{H}_2\text{O}_2$  6 % e 10 %,  $\text{NaOH}$  10 % e  $\text{KOH}$  10 %. Para extração de xilose foi utilizado um pré-tratamento com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1%. Os materiais pré-tratados foram submetidos à hidrólise enzimática para determinação do rendimento de conversão de celulose em glicose. O bagaço, colmo e folha *in natura* apresentaram proporção de celulose de 43,58 %, 42,23 % e 35,09 %. A proporção de hemicelulose foi de 24,51 %, 22,14 % e 20,51 %, e a de lignina de 26,22 %, 20,92 % e 19,93 %. O rendimento de xilana variou de 17,79 % no pré-tratamento do colmo com  $\text{H}_2\text{O}_2$  6 % e 96,8 % no pré-tratamento do colmo com  $\text{NaOH}$  10 %. A hidrólise enzimática do material pré-tratado apresentou porcentagem de conversão de celulose em glicose entre 20,69 % no resíduo do bagaço pré-tratado com ácido diluído e 92,58 % no resíduo da folha pré-tratada com  $\text{NaOH}$  10 %. Todas as biomassas apresentaram alto rendimento de extração de hemicelulose empregando os pré-tratamentos com peróxido de hidrogênio 10 % e hidróxido de sódio 10 %. A hidrólise enzimática resultou em rendimento superior a 90 % para as três biomassas pré-tratadas com peróxido de hidrogênio 10 % e acima de 80 % para as biomassas pré-tratadas com hidróxido de potássio 10 %. O sorgo sacarino tem potencial para a produção macromoléculas como a xilana e glucana e para a produção de açúcares fermentáveis como a xilose e glicose.

**Palavras chave:** Biomassa; Pré-tratamento alcalino e ácido diluído; Hidrólise enzimática, Xilana; Xilose, Glicose.

## ABSTRACT

Sweet sorghum is a viable alternative for ethanol production due to its large production of juice and bagasse. Bagasse can be burned to produce steam and electricity. However, studies shows there are more important applications for this biomass and other plant fractions. The lignocellulosic structure of the biomass can be broken down to make its main components available - cellulose, hemicellulose and lignin. These components can also be hydrolyzed to their forming units. The present study used sweet sorghum bagasse, stalks and leaves and sought to determine the influence of different pretreatments in the extraction of hemicellulose in the form of polysaccharide (xylan) and monosaccharide (xylose). Xylan extraction was performed using alkaline methods with 6% and 10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 10% NaOH and 10% KOH. For xylose extraction, a pretreatment with 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was used. The pretreated materials were subjected to enzymatic hydrolysis to determine the conversion efficiency of cellulose to glucose. Untreated bagasse, stalks and leaves of sweet sorghum presented a proportion of cellulose of 43.58%, 42.23% and 35.09%. The proportion of hemicellulose was 24.51%, 22.14% and 20.51%, and that of lignin 26.22%, 20.92% and 19.93%. The xylan yield varied from 17.79% in stalks pretreatment with 6% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 96.8% in stalks pretreatment with 10% NaOH. The enzymatic hydrolysis of the pretreated material showed a percentage of conversion of cellulose to glucose between 20.69% in pretreated bagasse with diluted sulfuric acid and 92.58% in pretreated leaves with 10% NaOH. All biomasses presented high hemicellulose extraction yield using pretreatments with 10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 10% NaOH. Enzymatic hydrolysis resulted in a yield greater than 90% for the three biomasses pretreated with 10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and above 80% for the biomasses pretreated with 10% KOH. Sweet sorghum has great potential to produce macromolecules like xylan and glucan and to produce fermentable sugars like xylose and glucose.

**Keywords:** Biomass; Diluted acid and alkaline pretreatment; Enzymatic hydrolysis; Xylan; Xylose, Glucose

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Plantas de sorgo sacarino. ....	15
Figura 2 – Balanço de massa da extração de caldo e produção de etanol com sorgo sacarino. ....	17
Figura 3 – Organização estrutural dos componentes do material lignocelulósico. ....	18
Figura 4 – Estrutura básica das fibras celulósicas. ....	20
Figura 5 – Organização estrutural das fibras celulósicas. ....	20
Figura 6 – Regiões amorfas e cristalinas das fibras celulósicas. ....	21
Figura 7 – Principais unidades das fibras de hemicelulose. ....	23
Figura 8 – Tipos de hemicelulose. ....	24
Figura 9 – Organização química das xilanas. ....	24
Figura 10 – Precursores primários das ligninas. ....	26
Figura 11 – Organização estrutural da lignina. ....	26
Figura 12 – Formação do Complexo Lignina Carboidrato a partir de ligações $\alpha$ – éter. ....	27
Figura 13 – Ação dos pré-tratamentos na biomassa lignocelulósica. ....	31
Figura 14 – A ação sinérgica das celulases sobre as fibras de celulose. ....	36
Figura 15 – Fluxograma da metodologia aplicada. ....	37
Figura 16 – Etapas do plantio do sorgo sacarino. ....	39
Figura 17 – Aspecto dos materiais após a moagem. ....	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química da biomassa lignocelulósica do sorgo sacarino. ....	29
Tabela 2 – Composição química do solo da área de plantio do sorgo sacarino. ....	38
Tabela 3 – Composição química do sorgo sacarino <i>in natura</i> . ....	46
Tabela 4 – Rendimento de extração de xilana da biomassa do sorgo sacarino. ....	49
Tabela 5 – Composição química da xilana do sorgo sacarino. ....	51
Tabela 6 – Recuperação de massa dos pré-tratamentos alcalinos. ....	54
Tabela 7 – Composição química dos pré-tratados com métodos alcalinos. ....	55
Tabela 8 – Rendimento de açúcares e ácido acético do pré-tratamento com ácido diluído. ....	57
Tabela 9 – Recuperação de massa do pré-tratado com ácido diluído. ....	59
Tabela 10 – Composição química do resíduo pré-tratado com ácido diluído. ....	60
Tabela 11 – Conversão de celulose em glicose na hidrólise enzimática. ....	61

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Objetivos específicos.....</b>	<b>14</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1 O sorgo sacarino .....</b>	<b>15</b>
3.1.1 <i>Características gerais do sorgo sacarino .....</i>	<b>16</b>
3.1.2 <i>O sorgo sacarino como matéria-prima para a indústria.....</i>	<b>16</b>
<b>3.2 Componentes da biomassa lignocelulósica.....</b>	<b>17</b>
3.2.1 <i>A celulose .....</i>	<b>19</b>
3.2.2 <i>A Hemicelulose .....</i>	<b>22</b>
3.2.3 <i>A Lignina.....</i>	<b>25</b>
3.2.4 <i>Cinzas e extrativos .....</i>	<b>28</b>
<b>3.3 Características da biomassa lignocelulósica do sorgo sacarino.....</b>	<b>29</b>
<b>3.4 Pré-tratamentos da biomassa lignocelulósica .....</b>	<b>30</b>
3.4.1 <i>Pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino.....</i>	<b>32</b>
3.4.2 <i>Pré-tratamento alcalino .....</i>	<b>33</b>
3.4.3 <i>Pré-tratamento com ácido diluído .....</i>	<b>34</b>
3.4.4 <i>Hidrólise enzimática da celulose .....</i>	<b>35</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>37</b>
<b>4.1 Obtenção do material.....</b>	<b>37</b>
4.1.1 <i>Características gerais da implantação e colheita do sorgo sacarino .....</i>	<b>38</b>
4.1.2 <i>Colheita e preparo do material .....</i>	<b>39</b>
<b>4.2 Composição química da biomassa do sorgo .....</b>	<b>40</b>
4.2.1 <i>Determinação do teor de extrativos .....</i>	<b>40</b>
4.2.2 <i>Determinação do teor de cinzas .....</i>	<b>41</b>
4.2.3 <i>Caracterização química do material in natura, pré-tratado e da hemicelulose....</i>	<b>41</b>
<b>4.3 Extração de hemicelulose (macromolecular) .....</b>	<b>42</b>
4.3.1 <i>Extração com peróxido de hidrogênio .....</i>	<b>42</b>
4.3.2 <i>Extração com hidróxido de sódio.....</i>	<b>42</b>
4.3.3 <i>Extração com hidróxido de potássio .....</i>	<b>43</b>

4.3.4 <i>Rendimento de extração</i> .....	43
<b>4.4 Extração de hemicelulose (monomérica)</b> .....	<b>44</b>
<b>4.5 Hidrólise enzimática</b> .....	<b>44</b>
<b>4.6 Determinação da concentração de açúcares</b> .....	<b>45</b>
<b>4.7 Análise Estatística</b> .....	<b>45</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> ....	<b>46</b>
<b>5.1 Caracterização química da biomassa do sorgo <i>in natura</i></b> .....	<b>46</b>
<b>5.2 Extração de hemicelulose em meio alcalino</b> .....	<b>49</b>
5.2.1 <i>Rendimento da extração</i> .....	49
5.2.2 <i>Caracterização química da xilana</i> .....	51
5.2.3 <i>Recuperação de massa do material pré-tratado</i> .....	54
5.2.4 <i>Caracterização química do material pré-tratado</i> .....	55
<b>5.3 Extração de hemicelulose em meio ácido</b> .....	<b>57</b>
5.3.1 <i>Caracterização química da fração líquida</i> .....	57
5.3.2 <i>Recuperação de massa do material pré-tratado com ácido diluído</i> .....	59
5.3.3 <i>Caracterização química do material pré-tratado com ácido diluído</i> .....	60
<b>5.4 Hidrólise enzimática do resíduo sólido</b> .....	<b>61</b>
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>67</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é a matéria-prima mais usada pelo setor sucroalcooleiro no Brasil. A estimativa para a safra 2019/2020 é de 642,7 milhões de toneladas de cana, um aumento na produção de 3,6 %, com redução de 1,3 % da área cultivada em comparação a safra anterior. A estimativa de produção de etanol a partir da cana-de-açúcar é de 33,8 bilhões de litros, acréscimo de 4,6 % em relação à safra passada (CONAB, 2020).

Porém, durante a entressafra da cana-de-açúcar, tem-se um período em que as terras destinadas ao plantio e toda a infraestrutura e mão-de-obra utilizadas na produção de etanol ficam paralisadas por falta de matéria-prima para a moagem (TEIXEIRA; JARDINE; BEISMAN, 1997).

Existem, entretanto, indicações para o uso de consórcios entre a cana-de-açúcar e outras culturas com capacidade de suprir a falta de matéria-prima durante a entressafra. Destacam-se também para a mesma finalidade culturas como a beterraba açucareira e o sorgo sacarino (ALMODARES; HADI, 2009). Dentre essas culturas, o sorgo sacarino é bastante indicado por apresentar características semelhantes à cana-de-açúcar quanto à capacidade de armazenar açúcares nos colmos e ser grande produtora de caldo e bagaço (SOUZA et al., 2005; TEIXEIRA; JARDINE; BEISMAN, 1997).

A semeadura pode ocorrer entre os meses de outubro e novembro, para suprir a falta de cana-de-açúcar entre dezembro e março, quando as usinas não têm matéria-prima para a moagem (MAY et al., 2012). Como pode ser processado com o mesmo maquinário da cana-de-açúcar, ele pode reduzir a ociosidade das máquinas nas refinarias e permitir a geração de emprego e renda durante esse período (PARRELLA et al., 2010).

O sorgo sacarino necessita de menos 25 % da água necessária em relação ao desenvolvimento da cana-de-açúcar (UMAKANTH et al., 2019). Enquanto a necessidade de água da cana-de-açúcar é de 36.000 m<sup>3</sup>/ha, o sorgo sacarino necessita de apenas 8.000 m<sup>3</sup>/ha graças ao seu período curto de crescimento e de seu sistema radicular extenso (PRASAD et al., 2007). Por isso, ele pode ser plantado em regiões mais secas, com a possibilidade de ampliar a produção de bioetanol para regiões onde o cultivo da cana-de-açúcar não se desenvolve bem.

Para que a estratégia de consórcios entre cana-de-açúcar e sorgo tenha potencial econômico para ser implantada, é de grande importância que o bagaço do sorgo sacarino produzido possa servir de matéria-prima para a produção de produtos de valor agregado.

Atualmente existem diversos estudos visando o uso do bagaço de cana-de-açúcar como, por exemplo, o etanol de segunda geração (FERNANDES et al., 2017). Esses estudos também podem ser aplicados ao bagaço de sorgo sacarino para um melhor aproveitamento dessa cultura agrícola.

Alguns estudos demonstram que há potencial de rendimento econômico para o sorgo sacarino na produção de etanol. Seus colmos são ricos em caldo e contém uma quantidade de açúcares bem próxima da cana-de-açúcar (LIU et al., 2012). Na verdade, algumas variedades podem apresentar teores de açúcares de 15 a 23 %, em comparação com a cana-de-açúcar com 14 a 16 % (UMAKANTH; KUMAR, 2016). O bagaço produzido a partir do seu processamento é rico em materiais lignocelulósicos (GOSHADROU; KARIMI; TAHERZADEH, 2011), com números que se aproximam muito dos valores da cana-de-açúcar (PIMENTEL et al., 2017). A partir do material lignocelulósico pode-se produzir a mesma quantidade de etanol de segunda geração que a cana-de-açúcar (KIM; DAY, 2011).

Considerando que a biomassa de sorgo pode ser produzida em grande quantidade se utilizada para produção de etanol, muito resíduo será gerado, principalmente na forma de bagaço e folhas. Atualmente, o bagaço, que era rejeito do setor sucroalcooleiro, transformou-se em matéria-prima para a indústria e vem sendo valorizado por seu uso pois pode ser queimado para a produção de vapor e energia elétrica (ALVES, 2018). Entretanto, novas aplicações vêm sendo estudadas para um melhor aproveitamento do material (BEZERRA; RAGAUSKAS, 2016).

Estes estudos são comuns para bagaço de cana-de-açúcar, porém poucos estudos abordam a extração de produtos de valor agregado do bagaço de sorgo sacarino, como por exemplo, a hemicelulose. Nas gramíneas como o sorgo sacarino, a hemicelulose é constituída por cadeias de polissacarídeos conhecidas como xilanas, as quais podem ser usadas como matéria-prima para a fabricação de hidrogéis e ácido lático. Recentemente, uma aplicação que se mostra promissora é a formação de filmes biodegradáveis (NAIDU; HLANGOTHI; JOHN, 2018). Ao serem hidrolisadas, as xilanas dão origem a oligômeros de xilose, os xilooligosacarídeos (XOS). Os XOS podem ser aproveitados na alimentação humana e animal como pré-bióticos que promovem a proliferação de bifidobactérias, microrganismos mutualistas do intestino (FREITAS; CARMONA; BRIENZO, 2019). A hidrólise da xilana pode produzir a xilose, a qual pode ser utilizada na fabricação de xilitol, adoçante substituto da sacarose para diabéticos e que previne cáries (MOHAMAD; MUSTAPA KAMAL; MOKHTAR, 2014). Além disso, é possível empregá-la em processos fermentativos para a

produção de etanol (MOYSÉS et al., 2016) e na fabricação do furfural, usado em lubrificantes, adesivos e nylon (MACHADO et al., 2016).

Diante desta conjuntura, é interessante aplicar esses estudos no sorgo sacarino para determinar o potencial da cultura na extração e utilização de produtos de valor agregado que podem ser aproveitados pela indústria.

## 2 OBJETIVOS

Determinar a proporção de hemicelulose extraída do bagaço, folha e colmo de sorgo sacarino na forma de macromolécula (xilana) através do uso de pré-tratamentos alcalinos e na forma de monossacarídeo (xilose) com o uso de pré-tratamento ácido.

### 2.1 Objetivos específicos

- Determinar a composição química do bagaço, colmo e folha do sorgo sacarino *in natura*;
- Avaliar o rendimento de extração de hemicelulose na forma macromolecular (xilana) do bagaço, colmo e folha em pré-tratamentos com peróxido de hidrogênio, hidróxido de sódio e hidróxido de potássio;
- Avaliar o rendimento da extração da hemicelulose em forma de monossacarídeo (xilose) em pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído;
- Determinar a composição química da hemicelulose (xilana) extraída;
- Determinar a composição química dos pré-tratados; e
- Avaliar o rendimento em glicose dos materiais pré-tratados através da hidrólise enzimática.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 O sorgo sacarino

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é uma gramínea da família Poaceae. Sua provável origem é a África Oriental, de onde espalhou para outras regiões (GNANSOUNOU; DAURIAT; WYMAN, 2005). As variedades cultiváveis do sorgo são divididas em quatro grupos de acordo com a sua diversidade fenotípica e uso. Os quatro grupos são chamados de granífero, forrageiro, energia e sacarino. O sorgo sacarino é a variedade conhecida por ter um colmo com grande concentração de açúcares solúveis, os quais podem ser convertidos em etanol (MATHUR et al., 2017). A figura 1 mostra a planta de sorgo sacarino, evidenciando a altura dos colmos e as panículas com grãos.

Figura 1: Plantas de sorgo sacarino.



Fonte: Freita (2017).

### *3.1.1 Características gerais do sorgo sacarino*

O sorgo sacarino apresenta metabolismo energético C4, com altas taxas fotossintéticas. É uma planta com fotoperíodo de dia curto e com um ciclo de vida de 120 a 130 dias a partir da semeadura (MAGALHÃES; DURÃES, 2003). O sorgo sacarino possui alta produtividade em períodos chuvosos, como o verão, e a maior produtividade ocorre em temperaturas ótimas de 32 a 34 °C, o que torna a espécie muito adaptada a regiões semiáridas (MATHUR et al., 2017). Além disso, possui crescimento rápido, grande acúmulo de açúcares, tolerância à seca e ao encharcamento, resistência à salinidade (HAO et al., 2018) e baixos requisitos durante o plantio (BARCELOS et al. 2016).

### *3.1.2 O sorgo sacarino como matéria-prima para a indústria.*

O sorgo sacarino tem sido amplamente reconhecido como uma cultura agrícola promissora para a produção de biocombustíveis, pois é grande produtor de caldo, grãos e bagaço (Figura 2).

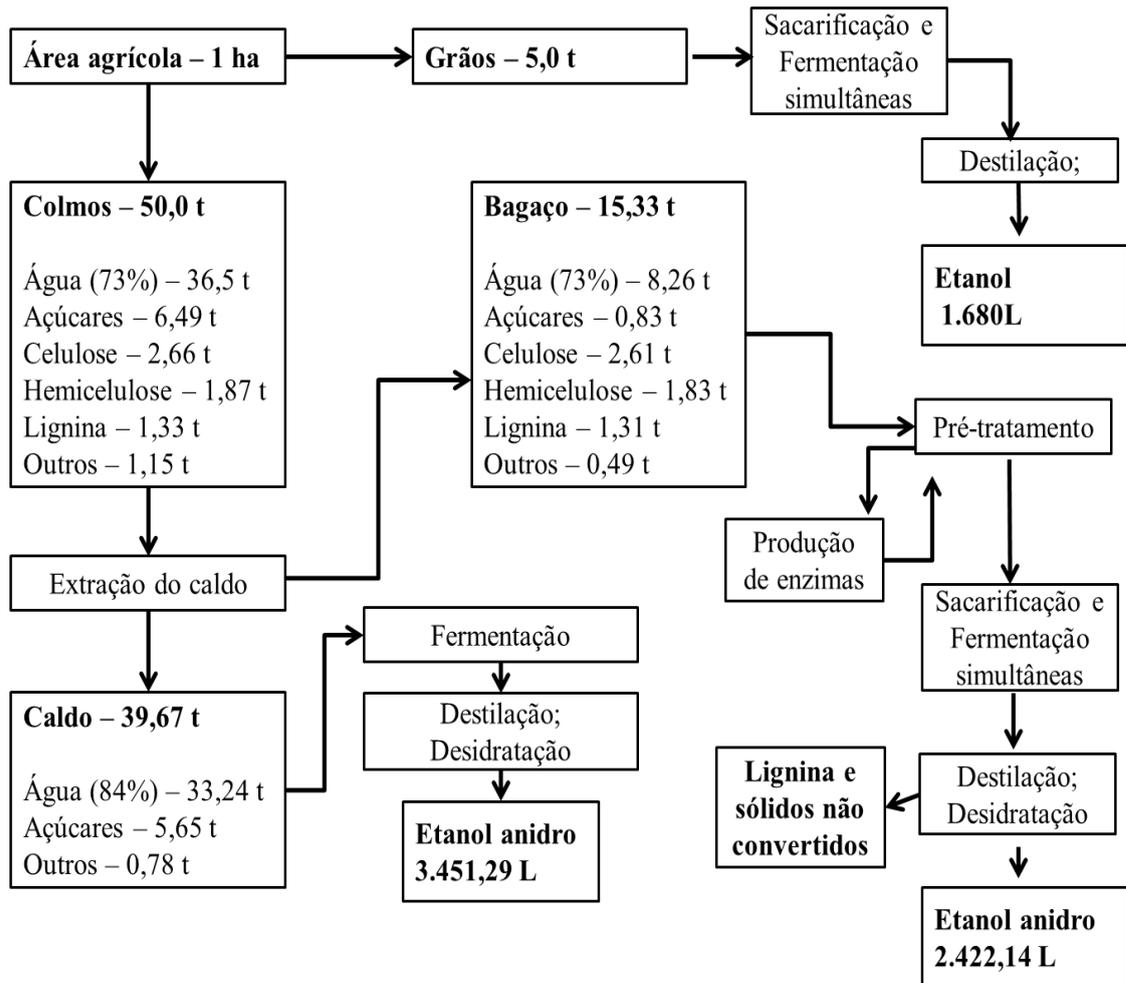
O caldo extraído dos colmos é rico em açúcares solúveis como a sacarose – 53 a 85 %, glicose – 9 a 33 % e frutose – 6 a 21 % (APPIAH-NKANSAH et al., 2019), esses açúcares podem ser facilmente fermentados e convertidos em etanol (SIPOS et al., 2009). Aplicando-se outros processos fermentativos, é possível obter biocombustíveis como butanol, gás metano e gás hidrogênio, além de ácido butírico, ácido lático e acetona (WHITFIELD; CHINN; VEAL, 2012; YU et al., 2012).

Nosso objeto de estudo produz uma panícula com grãos ricos em amido que, extraído dos grãos, pode ser convertido em açúcares fermentáveis para a produção de etanol (RUTTO et al., 2013). Os grãos também podem ser aproveitados como ração animal e na alimentação humana, oferecendo uma solução para o debate referente ao uso de terras para a produção de alimento ou matéria-prima para a produção de combustível, tendo em vista que a cultura pode servir para os dois propósitos (UMAKANTH et al., 2019).

O sorgo sacarino é um grande produtor de bagaço. Rico em biomassa lignocelulósica, o bagaço pode ser usado na fabricação de etanol de segunda geração a partir da hidrólise dos polissacarídeos que constituem sua biomassa (APPIAH-NKANSAH et al., 2019). Além disso,

o bagaço do sorgo sacarino também pode ser aproveitado como ração animal e possui maior quantidade de minerais que o bagaço de cana-de-açúcar (BLUMMEL et al., 2009). No mais, pode ser usado na produção de calor e energia elétrica a partir de sua queima (YU et al, 2012).

Figura 2. Balanço de massa da extração de caldo e produção de etanol com sorgo sacarino.



Fonte: Adaptado de Gnansounou; Dauriat; Wyman, (2005); Prasad et al. (2007).

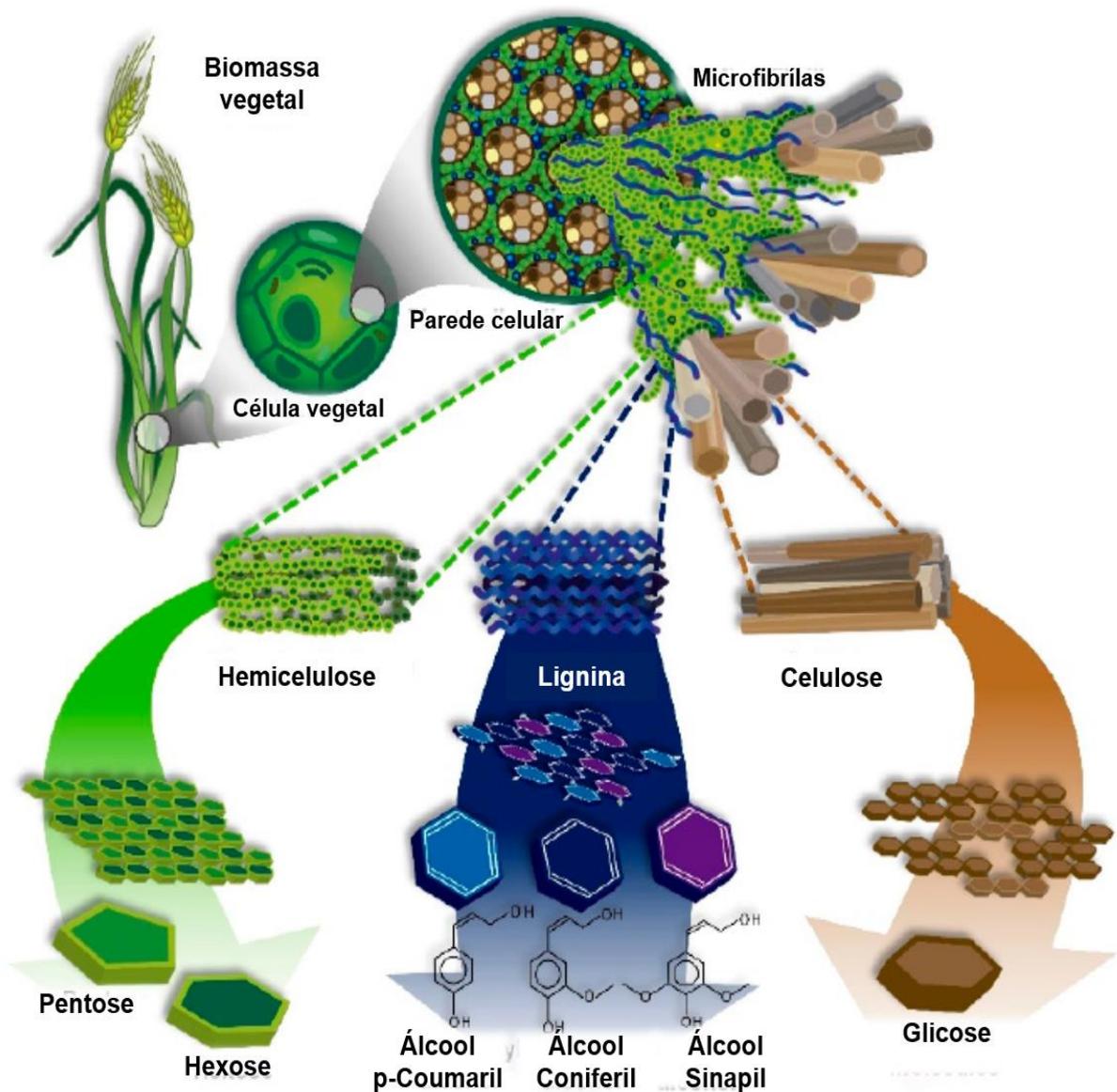
### 3.2 Componentes da biomassa lignocelulósica

Durante o crescimento da planta, suas células produzem uma parede celular primária que possui pequenas proporções de celulose e grande quantidade de pectina cuja função está relacionada à proteção. Entretanto, a parede celular secundária é composta principalmente por

biomassa lignocelulósica (HERNÁNDEZ-BELTRÁN et al., 2019), sua estrutura é fibrosa e composta principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, além de outros componentes como pectina, ésteres, álcoois, esteroides, proteínas e minerais (MENG; RAGAUSKAS, 2014).

De forma geral, a celulose e a hemicelulose são polissacarídeos fibrosos formados por monômeros de açúcar. A celulose forma fibras espessas que são estruturadas por cadeias também fibrosas de hemicelulose, já a lignina é um composto fenólico que preenche o espaço entre as fibras polissacarídicas, protegendo e dando maior rigidez e sustentação (Figura 3) (VÁSQUEZ et al., 2007; BUCKERIDGE, 2010; DAVISON et al., 2013).

Figura 3: Organização estrutural dos componentes do material lignocelulósico.



Fonte: Adaptado de Hernández-Beltrán et al. (2019).

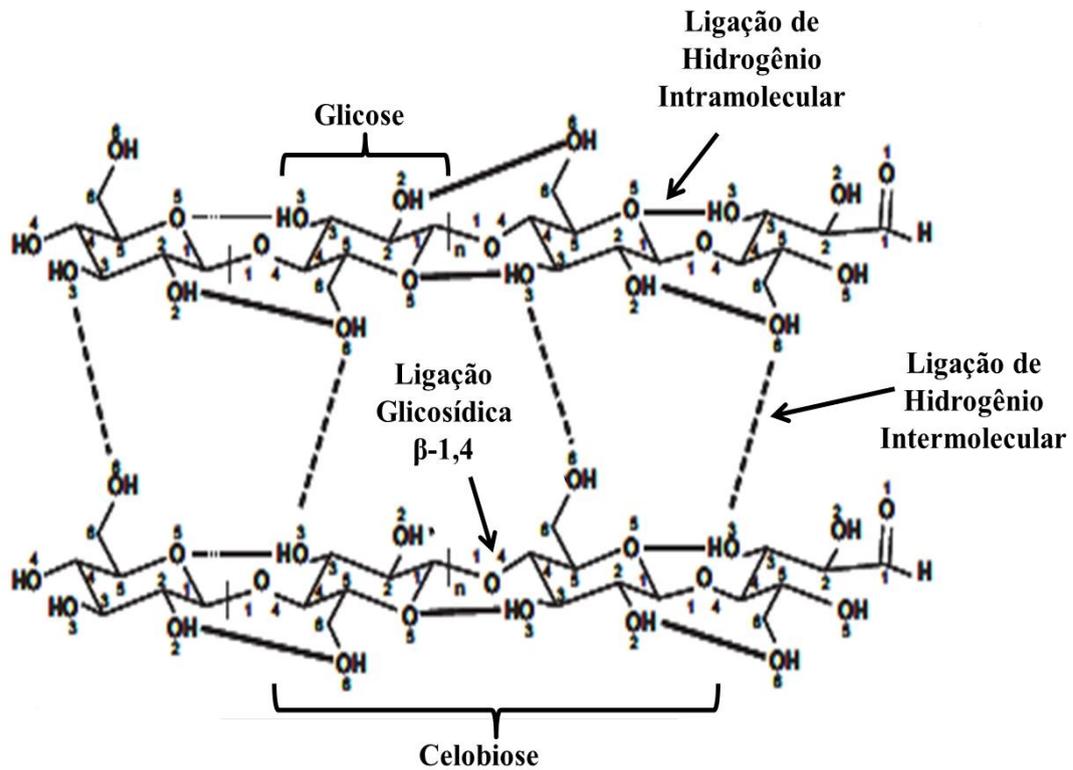
A biomassa lignocelulósica representa a maior fonte de resíduos orgânicos do planeta (CARVALHO et al., 2013) e é considerada uma matéria-prima promissora por ser abundante e barata (BROWN; HAWKINS; DORAN-PETERSON, 2017). Destacam-se, entre os materiais lignocelulósicos que podem ser usados na fabricação de etanol de segunda geração, os resíduos de celulose como papel e papelão, resíduos urbanos sólidos como folhas provenientes da varrição de ruas, resíduos agrícolas como casca de coco, palha de milho e bagaço de cana e de sorgo, além de biomassa herbácea como gramíneas e biomassa florestal proveniente principalmente de *Pinus* e *Eucalyptus*.

### 3.2.1 A celulose

A celulose é o polissacarídeo mais abundante do planeta (YUAN, 2016), com uma produção anual estimada em  $1.5 \times 10^{12}$  toneladas (HEINZE, 2015) e representa de 30 a 50 % da massa seca da biomassa lignocelulósica (LIMAYEM, RICKÉ, 2012). Apresenta uma estrutura linear com até 15.000 unidades de  $\beta$ -D-glicoses unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4, C-O-C éter. Essas ligações criam uma disposição na qual qualquer unidade de glicose se posiciona girada em  $180^\circ$  em relação à outra unidade vizinha, tal organização forma um dímero de celulose chamado celobiose, que é a verdadeira unidade formadora da molécula (DELMER, AMOR, 1995). Além disso, essas cadeias lineares também interagem entre si por ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (Figura 4).

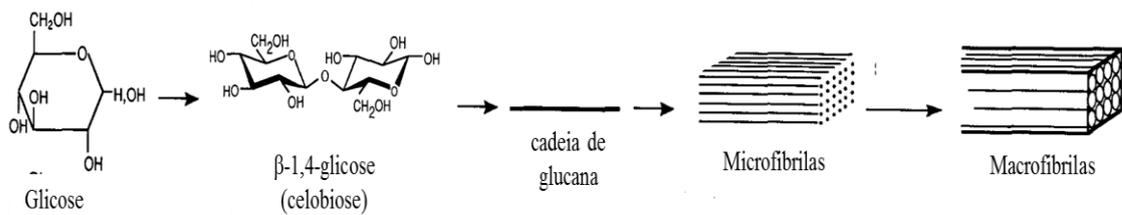
As ligações de hidrogênio entre as cadeias de celobiose proporcionam a agregação das cadeias celulósicas em microfibrilas que se reúnem em feixes maiores formando as fibrilas. As fibrilas, por sua vez, unem-se para formar as fibras de celulose (Figura 5) (PU et al., 2008; ARANTES; SADDLER, 2010; HEINZE, 2015). Essa organização da fibra celulósica confere uma série de características importantes para a célula vegetal como sustentabilidade, rigidez e flexibilidade (ALBERSHEIM et al., 2011).

Figura 4: Estrutura básica das cadeias celulósicas.



Fonte: Adaptado de Festucci-Buselli, Otoni e Joshi (2007).

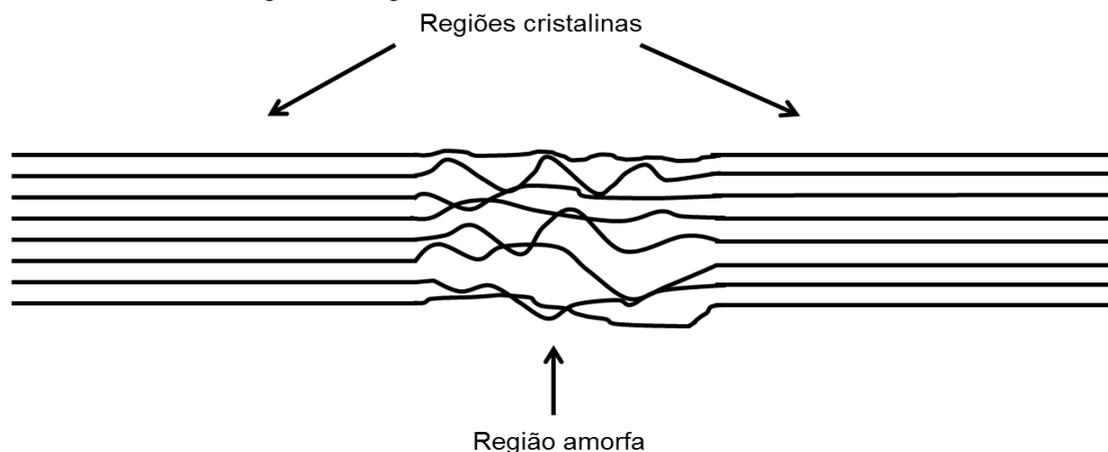
Figura 5. Organização estrutural das fibras celulósicas.



Fonte: Adaptado de Delmer e Amor (1995).

Uma das características mais marcantes da celulose é a cristalinidade. As fibrilas possuem regiões cristalinas, nas quais as cadeias de glicose estão ligadas em paralelo e formam fibras com maior resistência e regiões amorfas, onde o grau de organização é menor e a fibra é mais flexível (Figura 6) (VÁSQUEZ et al, 2007).

Figura 6 – Regiões amorfa e cristalina das fibras celulósicas.



Fonte: Autor

As ligações de hidrogênio intermoleculares originam as regiões cristalinas da celulose, que possuem maior recalcitrância, e isso aumenta a resistência à ação de enzimas e diminui a digestibilidade da celulose (ZHU et al., 2008). Na verdade, aceita-se que o grau de cristalinidade desempenhe um papel importante na taxa de reação da hidrólise, pois uma amostra completamente amorfa é hidrolisada muito mais rápido que uma amostra parcialmente cristalina (HALL et al., 2010).

A celulose nativa nas plantas é composta de três alomorfos cristalinos e duas formas não cristalinas. As formas cristalinas são a celulose I $\alpha$  (comum em bactérias e algas), celulose I $\beta$  (comum em plantas superiores) e celulose para-cristalina, que é a menos organizada de todas as celulosas cristalinas e mais organizada que as duas formas amorfas (HALLAC, RAGAUSKAS, 2011).

A extensão da fibra celulósica é medida através de grau de polimerização (GP), que representa o número de unidades de glicose que forma a cadeia polissacarídica. O GP da celulose varia de 10000 a 15000 unidades de glicose e essa variação ocorre de acordo com certos fatores relacionados à parede celular (presença de parede celular secundária, espessura e grau de maturação), ao tipo de biomassa e aos processos aplicados sobre ela, que geralmente diminuem o GP (FENGEL; WENEGER, 1989). O GP também influencia a hidrólise da celulose. Na biomassa pré-tratada, por exemplo, um alto GP dificulta a hidrólise da celulose pela celulase (HALLAC; RAGAUSKAS, 2011).

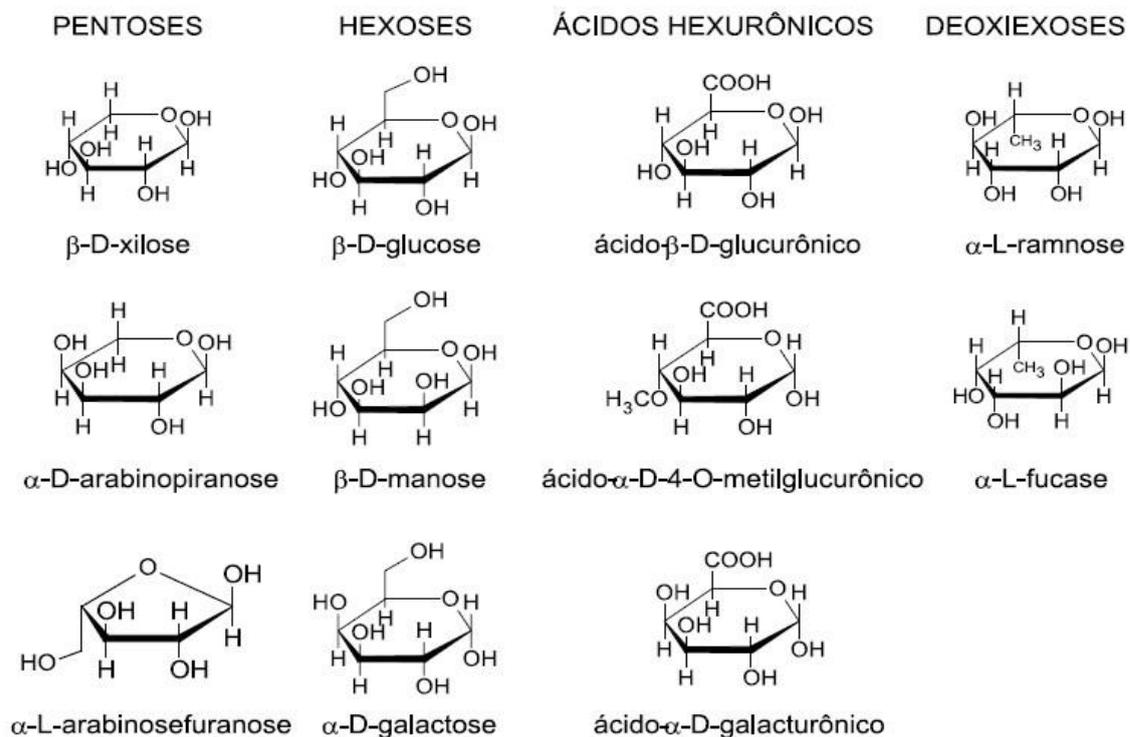
De acordo com Reddy e Yang (2007), os caules e folhas do sorgo têm fibras de celulose com baixo alongamento e tenacidade à quebra semelhantes às outras biomassas lignocelulósicas como a fibra de coco, algodão e linho. Comparativamente também apresentam baixa porcentagem de cristalinidade. Isso significa que ela tem mais regiões amorfas que facilitam a hidrólise química e a hidrólise enzimática. Apesar da baixa cristalinidade, as microfibrilas apresentam boa orientação e os cristais de celulose estão bem ordenados em relação ao eixo da fibra.

A celulose possui grande importância comercial. Seu uso pelo homem ocorre desde a invenção do papiro no Egito Antigo e tornou-se ainda mais importante a partir de 1838, quando o químico francês Anselme Payen isolou e descobriu a substância. Seu uso mais comum é na fabricação de papel/papelão, mas também vem sendo utilizada na fabricação de biofilmes para indústria farmacêutica e de fotografia, filtros para a indústria de cigarros e de fios para indústria têxtil, além de plásticos e explosivos (KLEMM, et al., 2005; SENNA; MENEZES; BOTARO, 2013).

### 3.2.2 A Hemicelulose

As hemiceluloses representam o segundo polissacarídeo mais abundante do planeta (PENG et al., 2009). As hemiceluloses representam entre 15 e 35% da massa seca da biomassa lignocelulósica. (LIMAYEM, RICKE, 2012). Ao contrário da celulose, são compostas por cadeias curtas - com 100 a 200 unidades glicosídicas unidas por ligações  $\beta$ -1,4, com grupos pendentes que variam conforme a origem da biomassa. As cadeias de hemicelulose são heterogêneas, sendo formadas por diferentes monossacarídeos. Os principais são as pentoses (D-arabinose e D-xilose), hexoses (D-galactose, D-manose e D-glicose), ácidos urônicos ( $\beta$ -D-glucurônico, D-4-O-metilglucurônico e  $\beta$ -D-galacturônico) e deoxiexoses ( $\alpha$ -L-ramnose e  $\alpha$ -l-fucose) (Figura 7). O tipo de grupo funcional e a quantidade em que ocorrem depende da matéria-prima utilizada (EBRINGEROVÁ; HROMADKOVA; HEINZE, 2005; GIRIO et al., 2010; LIMAYEM, RICKE, 2012).

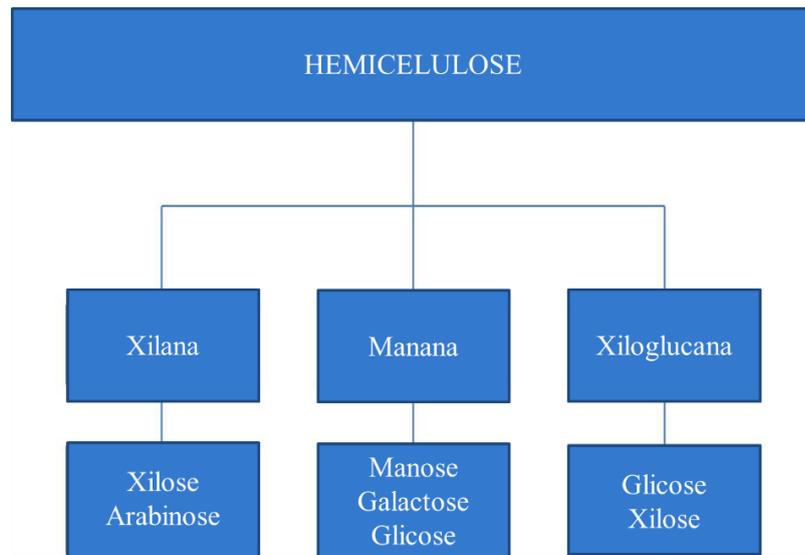
Figura 7. Principais unidades das fibras de hemicelulose.



Fonte: Rodrigues e Camargo (2008).

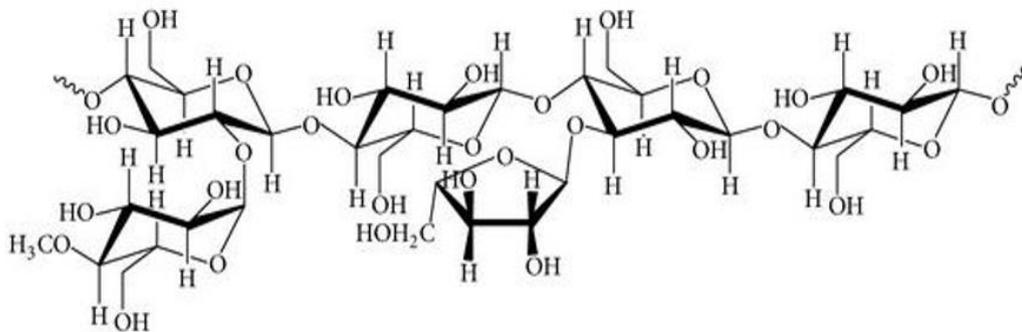
Existem ao menos três tipos básicos de hemicelulose: xilanas, mananas e xiloglucanas, que por sua vez podem dividir-se em diferentes subgrupos. As mananas são compostas principalmente de unidades de manose e apresentam quatro subgrupos: mananas, galactomananas, glucomananas e galactoglucomananas. As xilanas possuem como principal unidade de sua cadeia principal a xilose e compõem quatro subgrupos: homoxilanas, arabinoxilanas, glucuronoxilanas e arabinoglucuronoxilanas. As xiloglucanas são compostas principalmente por unidades de xilose e glicose (Figura 8). Dentre as hemiceluloses, as mais abundantes são as xilanas (Figura 9), principalmente as glucuronoarabinoxilanas que são as hemiceluloses mais presentes em plantas herbáceas e gramíneas (EBRINGEROVÁ; HROMADKOVA; HEINZE, 2005; GÍRIO et al., 2010; NAIDU; HLANGOTHI; JOHN, 2018).

Figura 8 – Tipos de hemicelulose.



Fonte: Adaptado de Naidu, Hlangothi e John, 2018.

Figura 9. Organização química das xilanas.



Fonte: Adaptado de Lee, Hamid e Zain (2014).

As cadeias de hemicelulose apresentam apenas organização amorfas. Por isso, exibem maior susceptibilidade à hidrólise ácida (FENGEL; WEGENER, 1989). Também são solúveis em álcalis (BALAT, 2011). Algumas formas de hemicelulose também podem dissolver-se em água a uma temperatura de 150° C (NAIDU; HLANGOTHI; JOHN, 2018).

As hemiceluloses formam ligações de hidrogênio com a celulose e ligações covalentes do tipo R(radical)-benzil e éter com a lignina, o que garante estabilidade à parede celular (PENG et al., 2009). Também forma ligações tipo éster com grupos acetil e ácidos hidroxicinâmicos em paredes celulares de gramíneas (EBRINGEROVÁ; HEINZE, 2000).

A presença da celulose e da hemicelulose proporciona importantes propriedades para as fibras, contribuindo para a mobilidade interna, o aumento da flexibilidade e o intumescimento dessas estruturas (BIANCHI, 1995). No caso da hemicelulose, também pode ser utilizada como energia extracelular, sistema de armazenagem de produtos brutos e mecanismo de retenção de água em sementes (WYMAN et al., 2005).

De acordo com Sun et al. (2013), nos colmos do sorgo sacarino, os monossacarídeos predominantes da hemicelulose são a xilose e a arabinose, derivadas das arabinoxilanas, enquanto pequenas quantidades de galactose provavelmente são derivadas de galactoarabinoxilanas e arabinogalactanas. De fato, os autores afirmam que a estrutura das hemiceluloses extraídas com soluções alcalinas foi identificada como L-arabino-4-O-metilglucurono-D-xylana.

Já Ray et al. (2019), citam que no sorgo sacarino a hemicelulose contém maiores concentrações de glicose (17-50 %), xilose (15-29 %) e galactose (11-40 %) e menores concentrações de arabinose (5-14 %), manose (0-14 %), rhamnose (2-10 %) e ácidos urônicos (1-2 %). As razões entre xilose e arabinose determinam o grau de ramificação da molécula e alto grau de polimerização e cadeias poliméricas menores ocorrem devido a menor razão e vice-versa (VALMURUGAN et al., 2020).

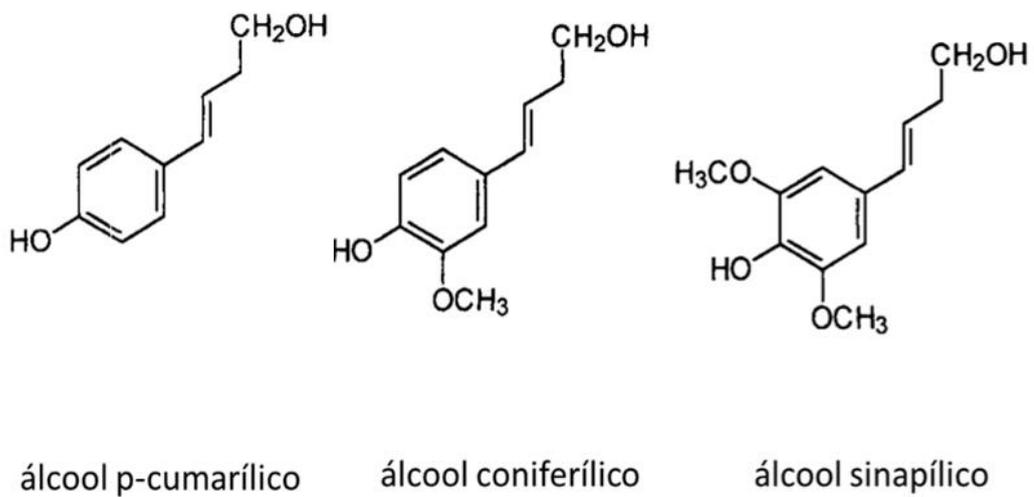
Os usos comerciais da hemicelulose são muitos. Ela é usada na fabricação de hidrogéis e na biorremediação da água devido à capacidade de adsorção de metais pesados como paládio, cádmio e zinco. Também é empregada na fabricação de biofilmes utilizados no encapsulamento de medicamentos. Além disso, hidrólise da hemicelulose pode originar xilooligosacarídeos, aplicados como prebióticos devido a sua capacidade de estimular o crescimento de bactérias da flora intestinal como lactobacilos e bifidobactérias. Outro produto da hidrólise da hemicelulose é a xilose, monômero que forma a cadeia principal da hemicelulose que pode ser convertida em etanol, ácido láctico, furfural e xilitol (adoçante) (EBRINGEROVÁ; HROMADKOVA; HEINZE, 2005; NAIDU; HLANGOTHI; JOHN, 2018).

### 3.2.3 A Lignina

A lignina representa entre 10 % e 20 % da biomassa lignocelulósica (LIMAYEM; RICKE, 2012). São macromoléculas tridimensionais e complexas de natureza polimérica e morfologicamente amorfas (KLOCK et al., 2005), formadas de monômeros de três tipos de

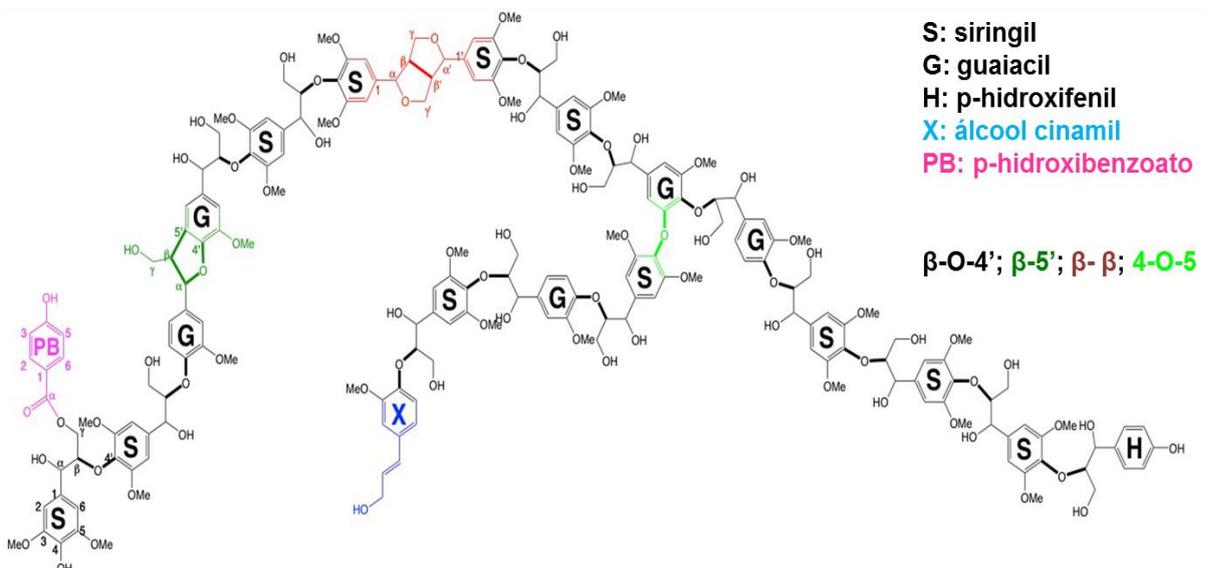
hidroxifenilpropanoides que diferem entre si pelo grau de metoxilação, o álcool coniferílico, o álcool sinapílico e o álcool p-cumarílico (Figura 10) (FASANELLA, 2008; SETTE WECHSELBERGER; CRESTINI, 2011). Esses álcoois originam as unidades guaiacil (G), siringil (S) e p-hidroxifenil (H) que se ligam para formar a macromolécula da lignina através de ligações do tipo  $\beta$ -O-4',  $\beta$ -5',  $\alpha$ -O-4', 4-O-5',  $\beta$ - $\beta'$  e em menor quantidade por ligações  $\beta$ -1' e 5-5' (Figura 11) (LI; PU; RAGAUSKAS, 2016).

Figura 10: Precursores primários da lignina.



Fonte: Dos Santos Abreu, Do Nascimento e Maria (1999).

Figura 11: Organização estrutural da lignina

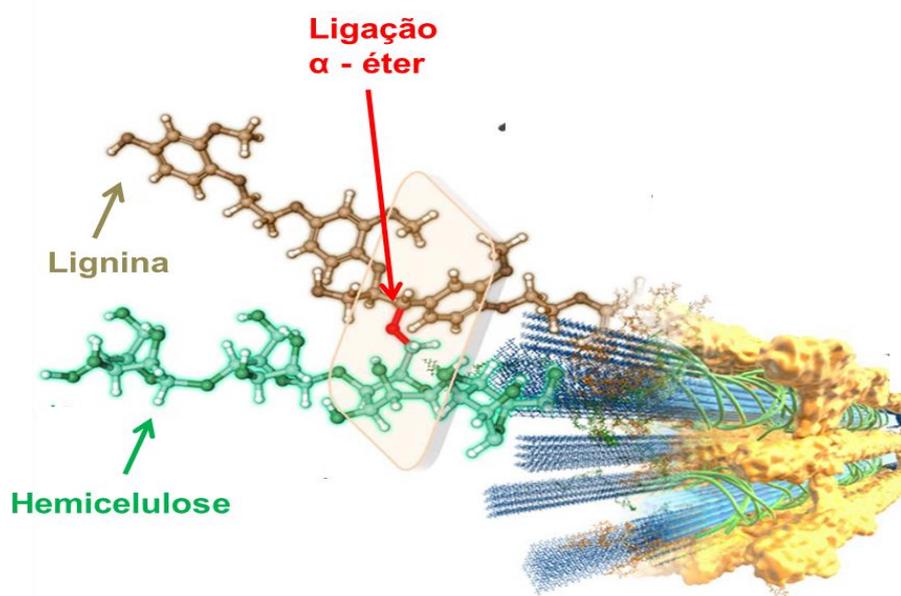


Fonte: Adaptado de Li, Pu e Ragauskas (2016).

A proporção de monômeros na lignina difere entre os táxons e as espécies. Ela é similar entre monocotiledôneas e dicotiledôneas e os monômeros G e S são mais comuns. No entanto, as primeiras possuem uma pequena, mas significativa, quantidade do monômero H, enquanto é encontrada nas dicotiledôneas em menor porcentagem (GRABBER et al., 2004, SETTE WECHSELBERGER; CRESTINI, 2011). A proporção de monômeros H pode ser ligeiramente mais alta em gramíneas e as gimnospermas são compostas apenas por monômeros G, com pequenas quantidades de monômeros H (BOERJAN; RALPH; BAUCHER, 2003). Além das diferenças entre as espécies, a composição da lignina também pode diferir entre os tipos de células (VANHOLME et al., 2010).

Na biomassa lignocelulósica, a lignina está presente em todas as camadas da parede celular secundária, porém é um componente majoritário apenas na lamela média (FASANELLA, 2008). Evolutivamente, é provável que esteja relacionada à colonização do ambiente terrestre pelas plantas (BOUDET; LAPIERRE; GRIMA-PETTENATI, 1995). Na parede celular, a lignina liga-se à hemicelulose através de uma ligação do tipo  $\alpha$  – éter entre o C6 da  $\beta$ -manose da glucoromanana e a posição  $\alpha$  da lignina. Essa ligação forma o Complexo Lignina Carboidrato – (CLC) (Figura 12) (NISHIMURA et al., 2018). Isso envolve as fibras e as mantém unidas como uma cola e garante a integridade e rigidez a biomassa lignocelulósica. Como é insolúvel e recalcitrante, a lignina protege as fibras da água e do ataque de agentes microbianos (NAIDU; HLANGOTHI; JOHN, 2018).

Figura 12 – Formação do Complexo Lignina Carboidrato a partir de ligações  $\alpha$  – éter.



Fonte: Adaptado de Nishimura et al. (2018).

No colmo de sorgo sacarino, a lignina possui quantidades relevantes de monômeros G e S e quantidades menores de monômeros H (SHE et al., 2010) ligados entre si, predominantemente, por ligações do tipo  $\beta$ -O-4' e com menores quantidades de ligações  $\beta$ - $\beta'$ ,  $\beta$ -5',  $\beta$ -1',  $\alpha$ -O-4 e  $\beta$ -O-4 (SUN et al., 2013). A lignina possui diversos usos comerciais. Devido ao seu alto valor calorífero, pode ser queimada para a produção de calor e eletricidade (PIMENTEL et al., 2017), também pode ser utilizada como cola natural das fibras na produção de compostos de madeira (HÜTTERMANN; MAI; KHARAZIPOUR, 2001). Além disso, é possível ser utilizada na produção de antioxidantes, emulsificantes, floculantes, dispersantes, aditivos de combustíveis, resinas, lubrificantes, tintas, corantes, graxas e aditivos para cimento (GUERRIERO et al., 2016).

#### *3.2.4 Cinzas e extrativos*

As cinzas provenientes da queima da biomassa são caracterizadas como resíduos sólidos não biodegradáveis ricos em sílica cristalina. A queima de biomassa, como o bagaço de cana-de-açúcar, para a cogeração de energia forma grandes quantidades de cinzas. No Brasil, 2,5 milhões de toneladas de cinzas são produzidas por ano e são basicamente utilizadas como fertilizantes (FARIA; GURGEL; HOLANDA, 2012) que podem ser aplicados em culturas florestais e agrícolas (OLANDERS; STEENARI, 1995). Também podem ser utilizados como aditivos na produção de argila cerâmica (FARIA; GURGEL; HOLANDA, 2012) e concreto (KATARE; MADURWAR, 2017).

Os extrativos são representados por compostos que não fazem parte do complexo celulose-hemicelulose-lignina, geralmente são removidos da biomassa antes das etapas analíticas. Os procedimentos de remoção de extrativos usam água e etanol para solubilizar esses compostos; os compostos solúveis em água podem incluir material inorgânico (que pode ser proveniente do solo ou fertilizantes associados à biomassa), açúcares não estruturais e material nitrogenado, já os compostos solúveis em etanol incluem clorofila e ceras (SLUITER et al., 2005).

### 3.3 Características da biomassa lignocelulósica do sorgo sacarino

O bagaço do sorgo sacarino apresenta característica de biomassa lignocelulósica (LIU et al., 2012). Considerando os resultados de diversos estudos, Pin (2015) cita uma média percentual de biomassa lignocelulósica no sorgo sacarino de 69,7 % (em relação ao total de massa seca), sendo 34,3 % de celulose, 23 % de hemicelulose e 12,4 % de lignina. A Tabela 1 mostra a composição química da biomassa do sorgo sacarino segundo os autores consultados.

Tabela 1. Composição química da biomassa lignocelulósica do sorgo sacarino.

Autores	Material	Composição (% massa seca)			
		Celulose	Hemicelulose	Lignina	Cinzas
SIPÓS et al., 2009	Bagaço	36,25	25,64	18,6	-
THANAPIMMETHA et al, 2011	Bagaço	58,23	25,42	14,95	1,4
KIM; DAY, 2011	Bagaço	44,6	27,1	20,7	0,4
ZHANG et al., 2011	Bagaço	45,3	26,3	15,2	-
GOSHADROU et al., 2011	Bagaço	41,33	17,96	18,25	-
CHEN et al., 2012	Bagaço	45	28	22	5
HEREDIA-OLEA et al., 2012	Bagaço	42,4	12,4	14	-
VANCOV; MCINTOSH, 2012	Folha	32,4	27	9,9	0,7
YU et al., 2012	Bagaço	22,8	32,5	22,2	2,5
POONSRISAWAT et al., 2013	Folha	44,5	38,6	6,1	-
GANESH KUMAR et al., 2014	Bagaço	45	34	21	5,4
SUN et al., 2015	Colmo	41,1	25,9	21,4	-
OSTOVAREH et al., 2015	Colmo	35,5	14,3	15,5	-
LI et al., 2015	Bagaço	38,1	35,2	16,3	2,1
CAO et al., 2016	Bagaço	36,4	21,9	13,9	0,7
CAO et al., 2017	Bagaço	30,5	19,8	22,8	-
DESHAVATH et al., 2017	Bagaço	34,8	29,7	14,3	-
NOZARI et al., 2018	Colmo	38,2	18,9	19,1	-
CAMARGO et al., 2019	Bagaço	36	31,1	24,7	3,3

\* (-) não determinado.

Fonte: Autor.

### 3.4 Pré-tratamentos da biomassa lignocelulósica

O maior problema na extração de macromoléculas da biomassa lignocelulósica é que a grande organização dos componentes dessa estrutura confere recalcitrância muito grande ao material (SANT'ANNA; DE SOUZA; BRIENZO, 2014; ZHAO, ZHANG; LIU, 2012). As aplicações que possam existir na extração dos componentes do material lignocelulósico são limitadas pela associação entre os três principais componentes da parede celular das plantas: a celulose, a hemicelulose e a lignina (RAMOS, 2003).

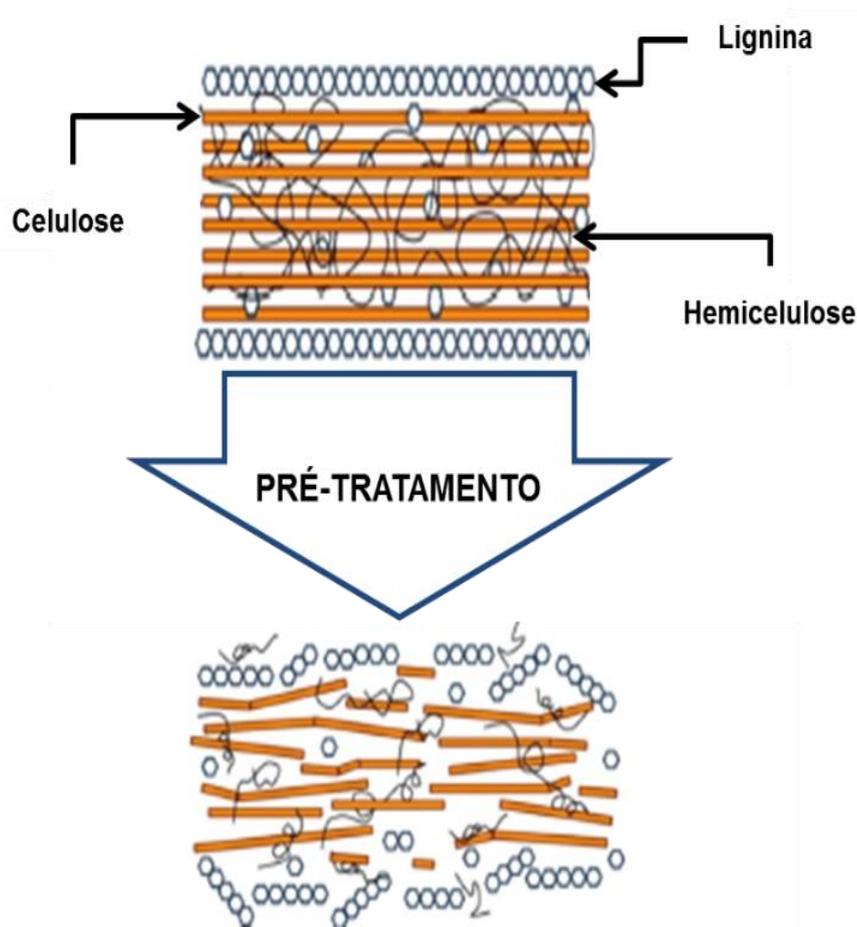
Nesse sentido, existem estudos que procuram por métodos para se separar os três principais componentes da biomassa lignocelulósica sem que isso cause a degradação que os inutilize e mantenha seu valor econômico (ALONSO et al., 2017).

Vários métodos de pré-tratamentos físicos (moagem, microondas, extrusão), químicos (álcali, ácido, organossolv, líquidos iônicos), físico-químicos (explosão à vapor, amônia) e biológicos ou combinados são propostos e desenvolvidos para diminuir a recalcitrância dos materiais lignocelulósicos. Esses pré-tratamentos visam por tornar a celulose mais acessível às enzimas que agem na hidrólise enzimática e convertem os carboidratos em açúcares fermentáveis (MELATI et al., 2019).

Um método adequado de pré-tratamento deve hidrolisar as ligações de hidrogênio das regiões cristalinas da celulose, quebrar as ligações cruzadas da hemicelulose com a lignina e aumentar a superfície de contato e a porosidade da celulose para a ação de enzimas em posterior hidrólise enzimática. Também é importante que o método evite a produção elevada de produtos inibitórios da ação enzimática como furfural, 5-hidroxi-metil-furfural (HMF), ácido fórmico, ácido acético, ácido levulínico e compostos fenólicos (HAGHIGHI MOOD et al., 2013).

A Figura 13 mostra como os pré-tratamentos agem na estrutura da biomassa lignocelulósica.

Figura 13: A ação dos pré-tratamentos na biomassa lignocelulósica



Fonte: Adaptado de Haghighi Mood et al. (2013).

Os pré-tratamentos físicos são utilizados com o propósito de diminuir o tamanho da partícula e muitas vezes alterar a cristalinidade e o grau de polimerização da celulose (ALVIRA, TOMÁS-PEJO; NEGRO, 2010; CHANDRA et al., 2007; SILVA, 2016). As vantagens desses métodos é que são indiferentes às características físicas e químicas da biomassa. Porém, as técnicas não removem a lignina e consomem muito tempo e energia e, dependendo do tamanho da partícula, podem representar o maior custo do processo (ALVES, 2018).

Nos pré-tratamentos químicos são usadas soluções com substâncias que reagem de alguma forma com os componentes da biomassa lignocelulósica, separando seus componentes e facilitando o acesso aos polissacarídeos formadores. Têm sido os mais utilizados, pois removem a lignina sem interferir na celulose e com baixa degradação da hemicelulose (SANTOS et al., 2012). Os métodos mais utilizados para a separação dos componentes da biomassa têm sido soluções de ácido diluído como as de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), ácido nítrico

(HNO<sub>3</sub>) e ácido hidrocloreto (HCl) (RAMOS, 2003), além de soluções alcalinas de hidróxido de potássio (KOH) e de hidróxido de sódio (NaOH); e soluções com agentes oxidantes como o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) que, em soluções alcalinas, forma radicais que reagem com a hemicelulose e a lignina, levando à dissolução dessas substâncias (RABELO, 2007).

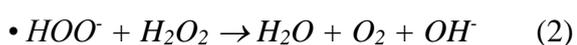
Os pré-tratamentos biológicos visam à utilização de enzimas produzidas por microrganismos que degradam os componentes da biomassa lignocelulósica. Dentre esses microrganismos estão, por exemplo, bactérias do tipo *Cellulomonas fimi* e *Clostridium thermocellum* e por fungos como *Trichoderma reesei*, *Humicola insolens* e *Penicillium pinophilum* (GARCIA, 2009).

#### 3.4.1 Pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino.

Atualmente, existe um grande interesse no uso do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) como agente oxidante na extração de materiais lignocelulósicos, pois o método apresenta como vantagens o fato de não usar ácidos durante a extração, não deixar resíduos na biomassa, usar reagentes acessíveis e ocorrer em condições brandas de temperatura e pressão (ARAÚJO, 2016), apesar de Cao et al., (2016) relatarem aumento no rendimento na hidrólise da celulose e na produção de açúcares ao usar alta pressão e temperatura – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 % (m/v) e posterior autoclave a 121 °C, 60 min, NaOH 2 % (m/m).

O uso do peróxido de hidrogênio tem como finalidade remover a lignina e a hemicelulose, deixando o resíduo celulósico exposto à ação das enzimas (BRIENZO et al., 2017). O peróxido em meio alcalino remove do conteúdo de acetil da cadeia de xilana (BRIENZO; SIQUEIRA; MILAGRES, 2009), com isso, o método torna possível recuperar boa parte da celulose em forma de glicose após a hidrólise enzimática (BANERJEE et al., 2011).

O peróxido de hidrogênio se dissocia em superóxidos e radicais hidroxila que promovem a despolimerização e fragmentação da lignina (SELIG et al., 2009). O meio alcalino quebra as ligações  $\alpha$ -éter solubilizando a molécula associada e cliva ligações éster, que incluem grupos acetil e ácidos ferúlico e diferúlico, ligando cadeias de xilana com a lignina (MELATI, 2018). O esquema abaixo mostra as reações que proporcionam a quebra da lignina (GOULD, 1985).



Deve-se reduzir a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio para que não haja formação excessiva de radicais livres que podem degradar os polissacarídeos. Metais como o ferro, o cobre e o manganês podem acelerar essa decomposição, sendo necessária a eliminação desses metais no processo (ALVES, 2018).

O pré-tratamento com peróxido de hidrogênio também atua sobre a hemicelulose, porém, diferentemente de quando usa-se pré-tratamentos ácidos onde o polissacarídeo é muito degradado, ao usar o peróxido de hidrogênio, a hemicelulose é somente solubilizada ou parcialmente degradada (GARCIA, 2009).

#### *3.4.2 Pré-tratamento alcalino*

Os pré-tratamentos alcalinos aplicam diversos reagentes tais como amônia, hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de potássio (KOH) para aumentar a digestibilidade enzimática da celulose. Esses compostos são menos reativos que os reagentes ácidos e os pré-tratamentos são realizados sob condições mais brandas, à temperatura ambiente, o que elimina a necessidade de materiais caros e soluções para lidar com problemas como a corrosão (KIM; LEE; KIM, 2016).

O pré-tratamento alcalino provoca a dissolução da lignina e hemicelulose, a desesterificação das ligações éster intermoleculares, alteram o GP e as propriedades físicas dos sólidos tratados que podem envolver mudanças na área superficial, porosidade e cristalinidade (KIM; LEE; KIM, 2016).

O pré-tratamento empregando hidróxido de sódio gera material com maior grau de hidrólise enzimática que outros reagentes alcalinos. Silverstein et al. (2007) relataram remoção de lignina maior que 60 % usando NaOH 2 % no pré-tratamento de caule de algodão. Já Varga, Scengyel e Recaey (2002) relataram remoção de até 95 % usando NaOH 10 % em palha de milho. O NaOH ataca as ligações entre a lignina e hemicelulose, especificamente, quebra as ligações éteres e ésteres na estrutura do CLC e também provoca a clivagem das ligações éster e carbono-carbono nas moléculas de lignina (KIM; LEE; KIM, 2016).

O uso do hidróxido de sódio em escala comercial possui limitações, custos elevados e problemas relacionados com a descarga de sal no efluente do processo são alguns problemas enfrentados. Estudos vêm sendo feitos para tentar explorar o reaproveitamento do NaOH no efluente para novos pré-tratamentos ou, então, sua substituição pelo KOH, que pode ser

reaproveitado como fertilizante (LIU et al., 2015).

O KOH é bem menos explorado no pré-tratamento da biomassa lignocelulósica mas tem potencial devido a sua capacidade de desacetilar a biomassa. O KOH tem capacidade de degradar fibras bem ordenadas em nanotubos de carbono, enquanto o NaOH ataca principalmente as fibras mais desordenadas. Isso mostra que, possivelmente, o KOH poderia ser aplicado para a desestruturação das regiões cristalinas da celulose, facilitando a hidrólise enzimática (SHARMA et al., 2012 apud RAYMUNDO-PINËRO et al., 2005).

De acordo com Paixão et al. (2016), ao comparar os efeitos do NaOH e KOH na deslignificação de bagaço de cana-de-açúcar, relatou-se uma redução do teor de lignina de 19 % para 5 % no pré-tratamento com KOH enquanto para NaOH a redução foi para 7 %. O teor de celulose aumentou de 42 % para 80% com o KOH e para 72 % com o NaOH. O teor de hemicelulose foi reduzido de 29 % para 14 % e 11 % usando KOH e NaOH, respectivamente. Quanto à perda de sólidos o valor foi de 54 % para o KOH e 56 % para o NaOH. Isso mostra que o KOH foi mais efetivo para a remoção da lignina e para o aumento do conteúdo geral de polissacarídeos.

### *3.4.3 Pré-tratamento com ácido diluído*

Os pré-tratamentos ácidos são os processos mais comumente aplicados em biomassa lignocelulósica (BRIENZO et al., 2017). Os ácidos mais usados têm sido os inorgânicos (sulfúrico, nítrico, hidrocloreídrico e fosfórico) e orgânicos (fórmico, acético e propiônico) e o ácido sulfúrico apresenta maiores rendimentos de hidrólise comparado aos ácidos hidrocloreídrico, nítrico e fosfórico. O tratamento com ácido diluído geralmente refere-se a concentrações inferiores ou iguais a 10 %, com temperatura entre 100 °C e 240 °C, com pressão superior a 1 atm (CHEN et al., 2017).

O método solubiliza a hemicelulose e causa alterações na estrutura da lignina, quebrando as ligações entre a lignina e os carboidratos da biomassa lignocelulósica (SANTOS, 2015). Além disso, converte a hemicelulose em açúcares monoméricos fermentáveis e remove parcialmente a lignina que se redistribui na superfície das fibras celulósicas, o que torna a celulose mais acessível à hidrólise enzimática pela ação das exoglucanases e endoglucanases (CANILHA; SANTOS; ROCHA, 2011). Após o tratamento, obtêm-se uma solução hidrolisada

contendo açúcares simples (xilose, arabinose, glicose e galactose), além de um resíduo sólido formado por celulose e lignina (CAMARGO et al., 2019).

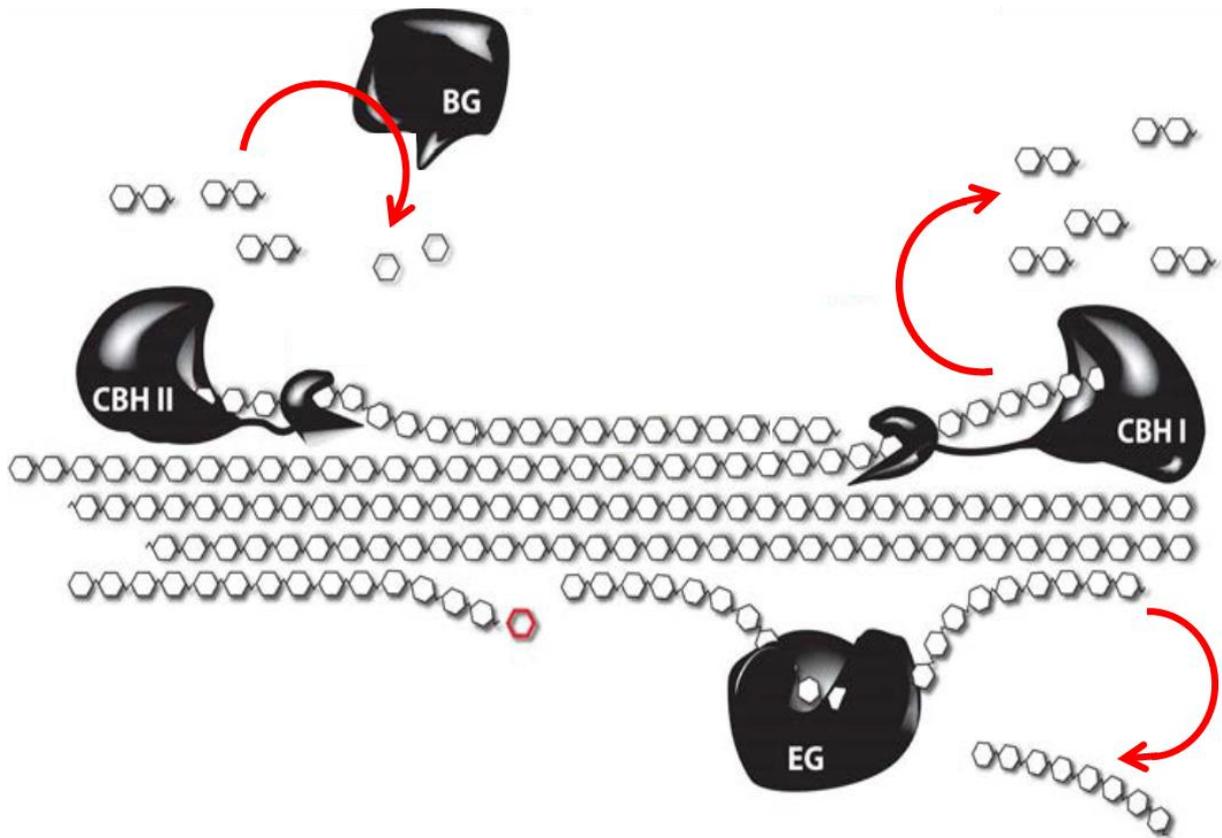
A principal desvantagem deste pré-tratamento é a formação de uma série de compostos tóxicos como o furfural e o HMF. Esses compostos inibem a ação enzimática e fermentativa de microrganismos. Outro problema é que o ácido deve ser neutralizado antes da hidrólise e da fermentação. Além disso, não é eficiente em remover a lignina, mesmo com condições severas de pré-tratamento (CHEN et al., 2017), e requer equipamentos que resistam à corrosão (RASMUSSEN; SORENSEN; MEYER, 2014). Outra desvantagem é que o processo não induz ao inchamento da região cristalina da celulose, o que provavelmente seria a causa do baixo rendimento do método (MORAIS; BROETTO, 2012).

#### *3.4.4 Hidrólise enzimática da celulose*

A hidrólise enzimática da celulose ocorre pela ação de um complexo de enzimas, denominadas de celulases, que agem sobre a estrutura da celulose quebrando-a em monômeros de glicose. Para hidrolisar completamente a celulose entram em ação três classes de enzimas. A primeira classe é das endo-1,4- $\beta$ -D-glucanases ou endoglucanases, que atuam nas regiões amorfas da cadeia celulósica quebrando as ligações glicosídicas e criando terminais, diminuindo a polimerização da celulose. A segunda classe é das exo-1,4- $\beta$ -D-glucanases ou celobiohidrolases (CBHs), que atuam sobre as regiões cristalinas da celulose e são responsáveis pela quebra nos terminais, formando unidades de celobiose. São dois tipos de celobiohidrolases, as CBHs I e as CBHs II, atuam nas extremidades redutoras e não-redutoras, respectivamente. A terceira classe é das 1,4- $\beta$ -D-glicosidades, que quebram a celobiose em glicose (HORN et al., 2012).

A ação dessas enzimas é sinérgica (Figura 14), as endoglucanases agem rompendo a estrutura cristalina da celulose e facilitando a atuação das celobiohidrolases. A ação termina quando a celulose é hidrolisada em celobiose, pois esta inibe a ação das celobiohidrolases. Entra em ação, então, as  $\beta$ -glicosidades que quebram a celobiose em glicose e que, por sua vez, inibem a ação das  $\beta$ -glicosidades (HORN et al., 2012).

Figura 14: A ação sinérgica das celulasas sobre as fibras de celulose.



Fonte: Adaptado de Vanholme et al. (2013).

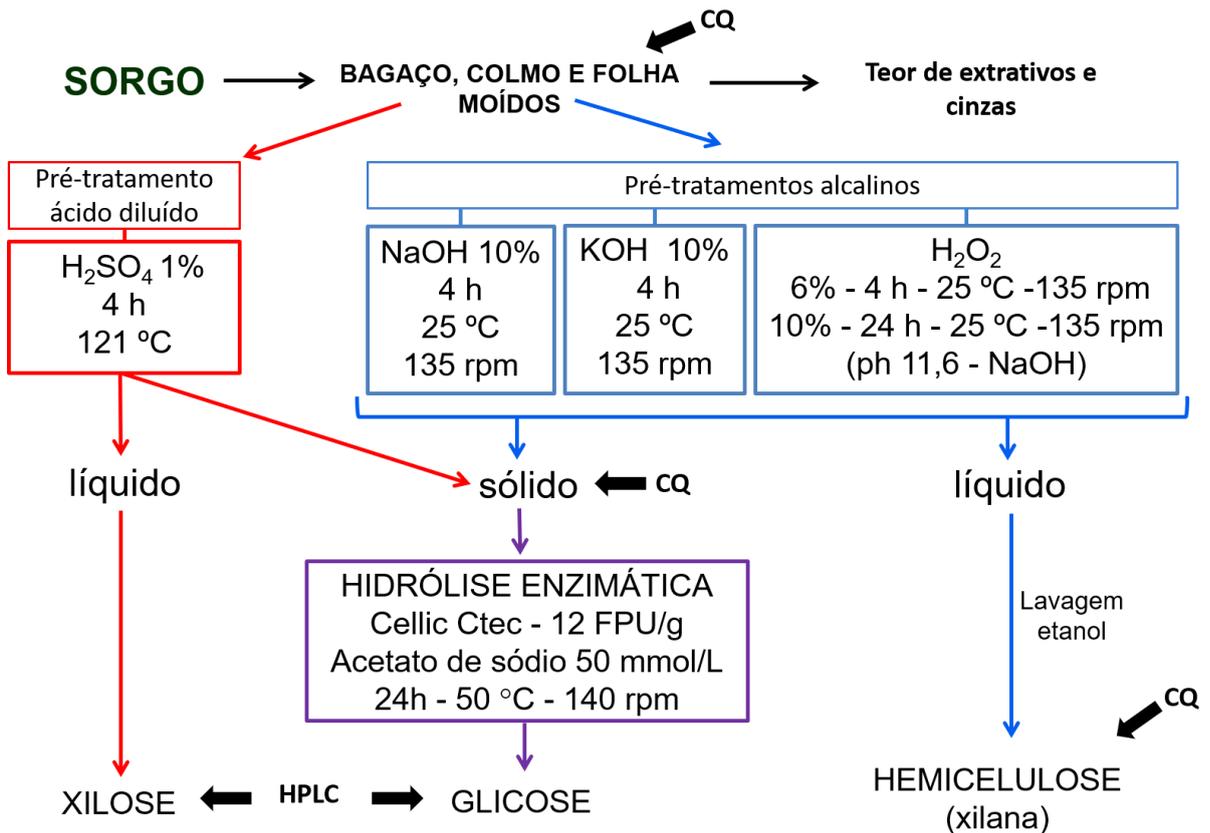
Para que a ação dessas enzimas ocorra, quanto maior a superfície da celulose acessível às enzimas, mais rápida será a reação, levando, conseqüentemente, a uma maior taxa de conversão em glicose (SHIMIZU et al., 2020). Porém, o processo não é influenciado apenas pelas condições do substrato, mas também por fatores enzimáticos como a fonte de enzimas, inibição do produto, inativação térmica, balanço de atividade sinérgica e compatibilidade enzimática (YANG et al., 2011).

A hidrólise enzimática tem sido muito aplicada em pré-tratamentos para fermentação posterior, pois não produz produtos que inibem a ação das leveduras (REIS et al., 2016). Além disso, apresenta custos baixos se comparado à hidrólise ácida, uma vez que é realizada em condições suaves de pH (4,8) e temperatura (45-50 °C) e não apresenta corrosão de equipamentos (DUFF; MURRAY, 1996). Entretanto, os rendimentos ficam bem abaixo de 100 % e converter biomassas ricas em celulose cristalina requer pré-tratamentos mais rigorosos (HORN et al., 2012).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

A Figura 15 mostra o fluxograma de como foi aplicada a metodologia dessa pesquisa.

Figura 15: Fluxograma da metodologia aplicada



\* CQ – Caracterização Química; HPLC – High Performance Liquid Cromatography

Fonte: Autor

### 4.1 Obtenção do material

O sorgo foi plantado na área experimental do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Campus Jaboticabal-SP. O bagaço (mistura de colmo e folha moídos para a retirada de caldo), os colmos e as folhas do sorgo sacarino foram enviados para o Laboratório Central do Instituto de Pesquisas em Bioenergia (IPBEN) da UNESP – Campus Rio Claro-SP.

#### 4.1.1 Características gerais da implantação e colheita do sorgo sacarino

O genótipo Malibu J53 de sorgo sacarino foi cultivado durante a safra 2018/2019. O município de Jaboticabal localiza-se a nordeste do Estado de São Paulo (21° 17' a 21° 18' S e 48° 08' a 48° 10' W), com altitude média de 585 metros. O clima de acordo com a classificação climática de Köppen é do tipo subtropical com inverno seco e precipitação média de 1.600 mm ao ano, com chuvas concentradas entre outubro e março e relativa estiagem entre abril e setembro. Durante o período de plantio as temperaturas médias foram de 25,7 °C e a precipitação foi de 261,5 mm. O relevo do local do plantio é predominantemente suave ondulado a ondulado e o solo é um Latossolo vermelho-escuro, eutrófico “A” moderado com textura argilosa. (FREITA, 2017). A Tabela 2 mostra a análise química realizada no Laboratório de Análise do Solo.

Tabela 2. Composição química do solo da área de plantio do sorgo sacarino.

Composição química													
Camada	pH	M.O.	P (Resina)	S	Ca	Mg	K	Al	H+Al SMP	SB	CTC	v	M
(cm)	(CaCl <sub>2</sub> )	(g dm <sup>-3</sup> )	(Mg dm <sup>-3</sup> )		(mmolc dm <sup>-3</sup> )						(%)		
0-25	5,7	24	16	5	24	13	2,6	1	24	40,3	64,0	63	2
25-50	5,4	18	10	5	22	10	2,6	1	25	34,3	59,5	58	2

\* M.O.- Matéria orgânica, P – Fósforo, S- Enxofre, Ca – Cálcio, K – Potássio, Al- Alumínio, H+Al- Acidez potencial, SB- Soma de bases, CTC-Capacidade de troca de cátions, V%- saturação por bases, m% saturação por alumínio

Fonte: Freita, 2017.

A instalação da cultura ocorreu em sistema de plantio direto com sementes. Utilizou-se semeadora de 5 linhas com taxa de 8 a 9 sementes por metro linear e espaçamento de 0,45 metros entre linhas. Obteve-se aproximadamente 130.000 a 140.000 plantas.ha<sup>-1</sup>. Para a adubação aplicou-se 36-126-72 kg.ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> K<sub>2</sub>O, Utilizando-se 350 kg.ha<sup>-1</sup> da fórmula 8-28-16 mais micronutrientes. Realizou-se também uma adubação de cobertura aos 25 dias após a semeadura (d.a.s.) aplicando-se 45-0-45 kg/ha de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> K<sub>2</sub>O, utilizando-se 225 kg/ha da fórmula 20-0-20 (FERREIRA, 2015). A Figura 16 mostra algumas etapas do processo de implantação da cultura.

Figura 16. Etapas do plantio do sorgo sacarino.



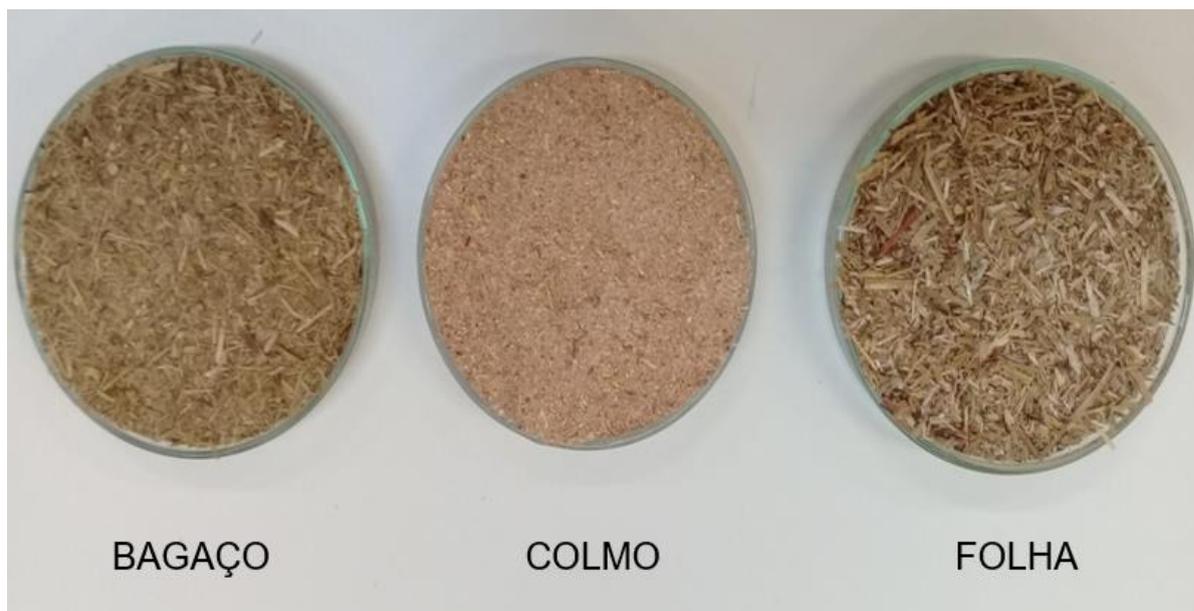
Fonte: Ferreira, 2015

#### *4.1.2 Colheita e preparo do material*

Os colmos do sorgo sacarino foram colhidos aproximadamente aos 118 d.a.s. (período com melhor qualidade tecnológica do sorgo). Os colmos foram limpos e moídos em moenda de um terno para a extração do caldo. O bagaço passou por um aparelho desfibrador e em seguida foi colocado sobre lonas para secar sob a luz do sol. Após seco foi armazenado em sacos plásticos para sua futura utilização (FERREIRA, 2015)

Os colmos e as folhas foram lavados para a retirada de poeira e terra e secos ao sol. Ambos os materiais foram picotados com uma tesoura de jardinagem em tiras de aproximadamente 10 cm. Os três materiais foram moídos em moinho de facas (Marconi - MA 580) com utilização de peneira de 20 mesh e armazenados em sacos plásticos à temperatura ambiente. A Figura 17 mostra o aspecto dos materiais após a moagem.

Figura 17. Aspecto dos materiais após a moagem.



Fonte: Autor

## 4.2 Composição química da biomassa do sorgo

### 4.2.1 Determinação do teor de extrativos

Foram confeccionados saquinhos de papel filtro para acondicionar as amostras para extração em soxhlet. Os saquinhos foram pesados em balança analítica (Bel - M214Ai) e as massas anotadas. Dentro dos saquinhos foram acondicionados separadamente 1 g do bagaço, do colmo e da folha do sorgo sacarino. As amostras foram colocadas no soxhlet (Lucadema - 145/6) para a remoção dos extrativos.

A lavagem do material para a remoção de extrativos foi realizada primeiramente com etanol 96 % por 8 horas e depois com água deionizada por mais 8 horas. Ao final, as amostras foram secas em estufa a 105 °C e pesadas em balança analítica. A massa de extrativos removidos foi calculada subtraindo a massa final da massa inicial do saquinho com a amostra.

#### 4.2.2 Determinação do teor de cinzas

Os cadinhos de porcelana foram colocados em mufla (MA 385-2) a 575 °C por de 4 horas. Posteriormente, foram retirados da mufla e colocados no dessecador, até atingir a temperatura ambiente (cerca de 1 hora). Os cadinhos foram pesados em balança analítica (Bel - M 214Ai) e suas massas foram anotadas. Foram pesados 1g do bagaço, do colmo e da folha no cadinho as massas exatas foram anotadas.

Os cadinhos com os materiais foram colocados na mufla a 575 °C por 4 horas, foram retirados da mufla e colocados no dessecador até atingir a temperatura ambiente. Novamente, os cadinhos foram pesados em balança analítica. A porcentagem de cinzas foi calculada com a massa de material obtido no cadinho após calcinação em relação a massa de material empregado.

#### 4.2.3 Caracterização química do material *in natura*, pré-tratado e da hemicelulose

As amostras do bagaço, colmo e folha do sorgo *in natura* livre de extrativos, os pré-tratados e a xilana foram empregados na caracterização química. A caracterização química consistiu em hidrolisar aproximadamente 300 mg de cada material adicionando 3 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72 % (m/m). A reação ocorreu a 45 °C por 7 minutos e então foi interrompida com adição de 84 mL de água destilada. Posteriormente as amostras foram colocadas em autoclave (Stermax – 2L) a 121 °C por 30 minutos.

Esta metodologia foi avaliada na caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar (GOUVEIA et al., 2009) e de hemicelulose (BRIENZO; SIQUEIRA; MILAGRES, 2009). O conteúdo foi filtrado em filtro de placa porosa nº 4 previamente tarado. O resíduo sólido foi lavado com água destilada e seco em estufa a 105 °C até massa constante para a determinação da lignina insolúvel. O teor de lignina solúvel em ácido foi determinado em espectrofotômetro (Bel - UV M51) por medida de absorbância entre 215 nm e 280 nm. Os teores de açúcares (glicose, xilose e arabinose) e ácido acético foram determinados em HPLC.

### 4.3 Extração de hemicelulose (macromolecular)

#### 4.3.1 Extração com peróxido de hidrogênio

As amostras do bagaço, colmo e folha do sorgo sacarino foram tratadas com solução de ácido tetracético etilenodiamina (EDTA) 0,2 % (m/v) durante 1 h a 90 °C (Banho-maria com circulação Solab – SL154/10) para remoção de metais. Posteriormente, as amostras dos materiais com 10 g foram colocadas em frascos Schott, seguido da adição de 200 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 %, pH ajustado com NaOH 5 mol/L em 11,6. A extração foi realizada com condições otimizadas para bagaço de cana-de-açúcar, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 % (m/v) a 25 °C durante 4 h e submetido à agitação de 135 rpm (BRIENZO; SIQUEIRA; MILAGRES, 2009). Também foi realizada uma extração com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % (m/v) a 25 °C durante 24 h com agitação de 135 rpm. Após a reação, o material passou por filtragem em papel de filtro.

O material sólido proveniente do pré-tratamento foi lavado até a água de lavagem chegar em pH da água destilada (4,5 a 5,0), sendo seco em estufa a 60 °C (Solab - SL100) e armazenado. A fração líquida da extração de xilana teve seu pH imediatamente corrigido para 6,0 com adição de HCl 6 mol/L. Esta solução foi concentrada cerca de 3 vezes (relação volume) em uma estufa a 45 °C. A hemicelulose foi precipitada adicionando 3 volumes de etanol 96 %. Após a sedimentação do material, o sobrenadante foi removido e ao precipitado adicionado uma solução de etanol 70 %. Esta etapa, lavagem com etanol 70 %, foi repetida por 4 vezes até obter-se um sobrenadante límpido. A hemicelulose foi separada e seca em estufa a 45 °C.

#### 4.3.2 Extração com hidróxido de sódio

As amostras do bagaço, colmo e folha de sorgo sacarino com 10 g de material foram colocadas em frasco Schott, seguido da adição de 200 mL de solução de NaOH 10 % (m/v). Os frascos foram colocados em banho-maria com circulação (Solab – SL-154/10) a 70 °C durante 4 h com agitação de 70 rpm. Após a reação, o material passou por filtragem em papel de filtro. Em seguida o pH do filtrado foi imediatamente corrigido para 6,0 com adição de HCl 6 mol/L.

Esta solução foi concentrada cerca de 3 vezes (relação volume) em uma estufa a 45 °C. (Solab - SL100).

A hemicelulose foi precipitada adicionando 3 volumes de etanol 96 %. Após a sedimentação do material, o sobrenadante foi removido e ao precipitado adicionado uma solução de etanol 70 %. Esta etapa, lavagem com etanol 70 %, foi repetida por 10 vezes até obter-se um sobrenadante límpido. O resíduo foi separado e seco em estufa a 45 °C. O material sólido pré-tratado foi lavado até a água de lavagem chegar em pH da água destilada (4,5 a 5,0), sendo seco em estufa a 60 °C e armazenado.

#### *4.3.3 Extração com hidróxido de potássio*

As amostras do bagaço, colmo e folha de sorgo sacarino com 10 g de material foram colocadas em frasco Schott, seguido da adição de solução de KOH 10 % (m/v). Os frascos foram colocados em banho-maria com circulação (Solab – SL-154/10) a 70 °C durante 4 h com agitação de 70 rpm. (DE FIGUEIREDO et al., 2017). Após a reação, o material passou por filtração em papel de filtro. Em seguida, o pH do filtrado foi imediatamente corrigido para 6,0 com adição de HCl 6 mol/L. Esta solução foi concentrada cerca de 3 vezes (relação volume) em uma estufa a 45 °C.

A hemicelulose foi precipitada adicionando 3 volumes de etanol 96 %. Após a sedimentação do material, o sobrenadante foi removido e ao precipitado adicionado uma solução de etanol 70 %. Esta etapa, lavagem com etanol 70 %, foi repetida por 10 vezes até obter-se um sobrenadante límpido. O resíduo foi separado e seco em estufa a 45 °C. O material sólido pré-tratado foi lavado até a água de lavagem chegar em pH da água destilada (4,5 a 5,0), sendo seco em estufa a 60 °C e posteriormente armazenado.

#### *4.3.4 Rendimento de extração de hemicelulose/xilana*

O rendimento de extração de hemicelulose/xilana do bagaço, colmo e folha foi determinado pela relação entre a quantidade de hemicelulose extraída em massa pela quantidade

de material utilizado:

$$\text{Rendimento de extração, \%} = \frac{M_h * 100}{M_i * h \%}$$

$M_h$  = massa de hemicelulose extraída (g);

$M_i$  = massa inicial de sorgo (g).

$h$  % = porcentagem de hemicelulose

#### 4.4 Extração de hemicelulose (monomérica)

Para extração de hemicelulose na forma monomérica foi utilizado um pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído. Foram pesadas 5 g do bagaço, do colmo e da folha de sorgo sacarino *in natura* em frasco schott e então adicionados 50 mL de solução de ácido sulfúrico – 2 % m/v. As amostras foram colocadas em autoclave (Stermax – 2L) a 121 °C por 1 h. Após o resfriamento as amostras foram filtradas. O material sólido pré-tratado foi lavado até a água de lavagem chegar em pH da água destilada (4,5 a 5,0), sendo seco em estufa a 60 °C e armazenado. A fração líquida foi novamente filtrada em filtro de seringa 0,22 µm e armazenado em geladeira a 4 °C para posterior determinação de glicose em HPLC.

#### 4.5 Hidrólise enzimática

As amostras do resíduo sólido do bagaço, colmo e folha do sorgo provenientes dos pré-tratamentos foram submetidas a hidrólise enzimática para avaliar o rendimento em glicose. Foi pesado 0,1 g de material em tubos falcon de 50 mL e submetido à hidrólise enzimática para comparar a digestibilidade utilizando coquetel comercial (Cellic Ctec), em 5 mL de tampão de acetato de sódio 50 mmol/L, pH 4,8. A atividade enzimática utilizada foi de 12 FPU/g, em reação a 50 °C e agitação de 140 rpm em incubadora shaker (Solab - SL-222) por 24 h (BRIENZO et al., 2015; SHIMIZU et al., 2018). Após o tempo de reação, as amostras foram submetidas a um banho térmico de 100 °C por 5 minutos para a desnaturação da celulase. Após

o resfriamento, as amostras foram filtradas em filtro de seringa 0,22  $\mu\text{m}$  previamente a determinação de glicose em HPLC. O rendimento em glicose (anidroglicose, fator de hidratação 0,9) foi expresso com base no conteúdo de celulose no material.

#### **4.6 Determinação da concentração de açúcares**

As amostras provenientes do pré-tratamento com ácido diluído, da hidrólise enzimática e das caracterizações químicas foram filtradas em filtro de seringa 0,22  $\mu\text{m}$  previamente a análise em HPLC para a determinação da concentração de açúcares. As concentrações de glicose, xilose, arabinose e ácido acético foram determinadas por HPLC, utilizando uma coluna Bio-Rad Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm) mantida a 45 °C, detector de índice de refração WATERS 2414, fase móvel de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,005 mol/L, fluxo de 0,6 mL/min e volume de amostra injetada de 20 mL (BRIENZO, 2010)

#### **4.7 – Análise Estatística**

Os resultados foram apresentados como média de triplicatas e o desvio padrão mostrado. O teste de Tukey foi aplicado aos resultados para identificar valores estatisticamente semelhantes (identificados pela mesma letra nas tabelas). Foi utilizado o software DX6Trial-expert (ANOVA), com nível de significância de 95 % ( $p < 0,05$ ).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização química da biomassa do sorgo *in natura*

Na Tabela 3, estão os resultados da composição química do bagaço, colmo e folha do sorgo sacarino *in natura*.

Tabela 3. Composição química do sorgo sacarino *in natura*.

Composição Química (% massa seca)	MATERIAL		
	Bagaço	Colmo	Folha
Glucana/Celulose	43,58 ± 6,26 <sup>a</sup>	42,23 ± 6,51 <sup>a</sup>	35,09 ± 2,24 <sup>a</sup>
Xilana	24,51 ± 2,67 <sup>a</sup>	22,14 ± 3,04 <sup>a</sup>	20,51 ± 1,40 <sup>a</sup>
Arabinana	2,33 ± 0,61 <sup>a</sup>	2,19 ± 0,34 <sup>a</sup>	3,51 ± 0,34 <sup>b</sup>
Ácido Acético	0,55 ± 0,24 <sup>a</sup>	0,45 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,04 <sup>a</sup>
Lignina Total	26,22 ± 0,09 <sup>a</sup>	20,92 ± 0,83 <sup>b</sup>	19,93 ± 0,91 <sup>b</sup>
Extrativos	21,84 ± 1,40 <sup>a</sup>	36,33 ± 0,42 <sup>b</sup>	32,31 ± 1,00 <sup>c</sup>
Cinzas	4,09 ± 0,05 <sup>a</sup>	3,10 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,41 ± 0,08 <sup>c</sup>

\* Resultados com diferentes letras (a, b, c) na mesma linha indicam diferença estatística entre os materiais.

No sorgo sacarino, bagaço, colmo e folha *in natura* apresentam porcentagens de glucana/celulose com valores estatisticamente semelhantes. A proporção de glucana no bagaço de sorgo sacarino foi reportada na literatura com valores entre 22,8 % e 58,23 % (THANAPIMMETHA et al., 2011; YU et al., 2012). No colmo, a proporção de glucana reportada na literatura variou de 35,5 % a 41,1 % (OSTOVAREH et al., 2015; SUN et al., 2015) e na folha foi reportada na literatura uma proporção entre 32,4 % e 44,5 % (VANCOV, MCINTOSH, 2012; POONSRISAWAT et al., 2013). No presente estudo, a porcentagem de glucana do bagaço e da folha está entre os valores apresentados na literatura e a porcentagem de glucana do colmo é estatisticamente semelhante ao valor máximo apresentado na literatura.

Bagaço, colmo e folha *in natura* apresentaram valores estatisticamente semelhantes para as proporções de xilana. A proporção de xilana de sorgo sacarino foi reportada na literatura entre 12,4 % e 35,2 % para o bagaço (HEREDIA-OLEA et al., 2012; LI et al., 2015), entre 14,3 % a 25,9 % para o colmo (OSTOVAREH et al., 2015; SUN et al., 2015) e entre 27 % e 38,6 % para a folha (VANCOV, MCINTOSH, 2012; POONSRISAWAT et al., 2013). O presente

estudo expõe que a porcentagem de xilana no bagaço e no colmo está entre os valores apresentados pela literatura e para a folha os valores estão abaixo do valor mínimo encontrado na literatura.

A folha apresentou a maior porcentagem de arabinana em relação ao bagaço e colmo que apresentaram porcentagens estatisticamente semelhantes. No bagaço de sorgo sacarino, as proporções de arabinana relatadas na literatura foram de 1,94 % (GOSHADROU, KARIMI; TAHERZADEH, 2011) e 2,2 % (WEI et al., 2018). No colmo foi de 2,3 % (SUN et al., 2015) e na folha a proporção foi de 2,64 % (VANCOV; MCINTOSH, 2012). O presente estudo determinou para o bagaço, colmo e folha porcentagens de arabinana maiores que as relatadas pela literatura. Na hemicelulose, as razões entre xilose e arabinose determinam o grau de ramificação da molécula. Altos graus de polimerização e cadeias poliméricas menores ocorrem devido a menor razão e vice-versa (VALMURUGAN et al., 2020). Nesse sentido, as xilanas com maior grau de polimerização e com cadeias poliméricas menores são o bagaço e colmo seguidos pela folha.

As porcentagens de ácido acético se mostraram estatisticamente semelhantes no bagaço, colmo e folha *in natura* (Tabela 3). Wei et al. (2018) relataram proporção de 0,08 % de ácido acético em bagaço de sorgo sacarino, valor menor que o apresentado por este estudo.

As maiores porcentagens de lignina total foram obtidas no bagaço, enquanto colmo e folha apresentaram porcentagens estatisticamente semelhantes (Tabela 3). Proporções de lignina foram reportadas na literatura com valores entre 13,9 % e 24,7 % no bagaço (CAO et al., 2016; CAMARGO et al., 2019), entre 15,5 % e 21,4 % no colmo (OSTOVAREH et al., 2015; SUN et al., 2015) e entre 6,1 % e 9,9 % na folha (VANCOV, MCINTOSH, 2012; POONSRISAWAT et al., 2013). No bagaço e na folha, as porcentagens de lignina do presente estudo ficaram acima do máximo apresentado pela literatura e para o colmo os valores ficaram entre os apresentados pela literatura.

Como a lignina protege as fibras de celulose e hemicelulose, altas porcentagens de lignina indicam materiais mais recalcitrantes (ZHAO; ZHANG; LIU, 2012). Nesse sentido, entre os materiais *in natura*, o bagaço apresenta maior recalcitrância que o colmo e a folha.

O colmo e o bagaço apresentaram a maior e a menor porcentagem de extrativos. Comparativamente, três estudos citaram para o bagaço de sorgo sacarino uma proporção de extrativos de 23,4 % (HEREDIA-OLEA; PÉREZ-CARRILLO; SERNA-SALDÍVAR, 2012), 15,55 % (DESHAVATH et al., 2017), 11,72 % (REIS et al., 2016) e 8,74 % (CAMARGO et al., 2019). A proporção de extrativos do presente estudo para o bagaço de sorgo sacarino foi estatisticamente semelhante ao maior valor encontrado na literatura. A remoção de extrativos

inclui duas etapas de extração: a primeira etapa para remover compostos solúveis em etanol ou outro solvente orgânico e a segunda para compostos solúveis em água. A remoção de extrativos deve ocorrer pois podem interferir na determinação de açúcares e lignina insolúvel (SLUITTER et al., 2005).

De acordo com Thammasouk, Tandjo e Penner et al. (1997), a remoção dos extrativos da biomassa de palha de milho, festuca e *switchgrass* diminuiu a proporção de lignina insolúvel nos materiais. Segundo os autores, certos extrativos podem condensar-se e aderir novamente à lignina ou tornarem-se insolúveis nas condições ácidas da análise química da biomassa. Portanto, a remoção dos extrativos pode determinar a verdadeira porcentagem de lignina insolúvel na biomassa lignocelulósica. Neste mesmo estudo, também houve uma redução no conteúdo de celulose, a qual pode ser proveniente de compostos não-celulósicos que contém glicose, provavelmente açúcares de baixo peso molecular. Tal situação também pode ser essencial na determinação da verdadeira porcentagem de celulose na biomassa.

A folha apresentou o maior teor de cinzas e o colmo o menor teor, 4,41 % e 3,10 % respectivamente. Estudos citaram porcentagem de cinzas no bagaço de sorgo sacarino de 0,8 % (KIM; DAY, 2011), 1,09 % (REIS et al., 2016), 1,4 % (THANAPIMMETHA et al., 2011), 2,0 % (WANG; LUO; SHAHBAZI, 2013), 2,4 % (HEREDIA-OLEA; PÉREZ-CARRILLO; SERNA-SALDÍVAR, 2012) e 3,31 % (CAMARGO et al., 2019). Para o colmo, a porcentagem de cinzas foi reportada como 2,1 % (LI et al., 2015) e 2,5 % (YU et al., 2012) e porcentagem de cinzas na folha de 0,7 % (VANCOV; MCINTOSH, 2012). Todas as porcentagens de cinzas apresentadas na literatura são menores que as do presente estudo.

Em processos industriais onde há queima da biomassa para cogeração de calor e energia, a deposição de cinzas pode diminuir a transferência de calor e aumentar a corrosão do tubo da caldeira e dos custos com limpeza de equipamentos, provocando perda de otimização no processo (LLORENTE e GARCÍA, 2005; TAN e LAGERKVIST, 2011). De acordo com os resultados, o colmo seria o material mais indicado para ser utilizado na queima da biomassa para cogeração de calor e energia elétrica em processos industriais.

## 5.2 Extração de hemicelulose em meio alcalino

### 5.2.1 Rendimento da extração

Na Tabela 4 estão reunidos os rendimentos de hemicelulose (em porcentagem, base seca) considerando os três materiais usados e os quatro pré-tratamentos alcalinos aplicados.

Tabela 4. Rendimento de extração de xilana da biomassa do sorgo sacarino.

Pré-tratamento	Rendimento em xilana (%)		
	Bagaço	Colmo	Folha
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6%</b>	24,61 ± 2,04 <sup>B b</sup>	17,79 ± 2,65 <sup>C c</sup>	40,07 ± 5,40 <sup>D a</sup>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10%</b>	80,54 ± 7,15 <sup>A b</sup>	92,49 ± 2,81 <sup>A a</sup>	93,45 ± 3,18 <sup>A a</sup>
<b>NaOH 10%</b>	89,05 ± 7,04 <sup>A a</sup>	96,80 ± 4,13 <sup>A a</sup>	83,04 ± 3,43 <sup>B a</sup>
<b>KOH 10%</b>	75,48 ± 16,15 <sup>A a</sup>	73,24 ± 1,23 <sup>B a</sup>	65,25 ± 11,66 <sup>C a</sup>

\* Resultados com diferentes letras minúsculas (a, b, c) na mesma linha indicam diferença estatística entre os materiais. Resultados com diferentes letras maiúsculas (A, B, C) na mesma coluna indicam diferença estatística entre os pré-tratamentos.

No pré-tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 %, o maior rendimento de extração de xilana ocorreu com a folha e o menor rendimento com o colmo, 17,79 % e 40,07 % respectivamente. No pré-tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % os rendimentos de extração de xilana da folha e colmo foram estatisticamente semelhantes e maiores que os do bagaço. Já nos pré-tratamentos com NaOH 10 % e KOH 10 %, os rendimentos dos três materiais foram estatisticamente semelhantes, considerando o mesmo tratamento.

Os menores rendimentos de extração de xilana ocorreram com os três materiais no pré-tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 %. Este pré-tratamento foi otimizado para bagaço de cana-de-açúcar (BRIENZO et al., 2009), porém, entre os pré-tratamentos testados nesse estudo, mostrou-se o de menor eficácia para o sorgo sacarino. Para o sorgo, foi necessário uma maior concentração de peróxido de hidrogênio (10 % m/v) para extrair xilana com maior rendimento.

Os maiores rendimentos de extração de xilana ocorreram com os pré-tratamentos dos três materiais com NaOH 10 % e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %. Os rendimentos de extração de xilana com o pré-tratamento com KOH 10 % apresentaram médias inferiores em comparação ao NaOH 10 % e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %, todavia, o rendimento de extração de xilana do bagaço apresentou-se estatisticamente semelhante a esses valores.

Usando pré-tratamentos com concentrações de NaOH diferentes do presente estudo, Li et al. (2015) relataram rendimento de hemicelulose de 88,6 % e Xu, Li e Sun et al. (2018) obtiveram rendimento de 64,7 % no colmo de sorgo sacarino. Wei et al. (2018) relataram rendimento de hemicelulose de 33 % no bagaço de sorgo sacarino. No pré-tratamento com NaOH do presente estudo, foram obtidos rendimentos de hemicelulose de 89,05 % no bagaço, 96,80 % no colmo e de 83,04 % na folha. Os rendimentos do pré-tratamento com NaOH do presente estudo foram superiores aos encontrados na literatura, destacando-se o emprego de apenas uma etapa no processo de extração.

Usando pré-tratamentos com concentrações de KOH diferentes do presente estudo, Wei et al. (2018) relataram um rendimento de xilana com o bagaço de sorgo sacarino de 21,4 % e de 7,6 %. Para o colmo de sorgo sacarino, Sun et al. (2013) relataram rendimento de extração de xilana de 76,3 %. No pré-tratamento com KOH do presente estudo, foram obtidos rendimentos de hemicelulose de 75,48 % no bagaço, 73,24 % no colmo e de 65,25 % na folha. Com o bagaço, os rendimentos de extração de xilana do pré-tratamento com KOH do presente estudo foram superiores aos encontrados na literatura. Já para o colmo os valores foram um pouco inferiores aos da literatura. Porém, destaca-se novamente o emprego de apenas uma etapa no processo de extração.

Os pré-tratamentos alcalinos que usam NaOH e KOH como reagentes são eficazes na extração da hemicelulose devido a sua capacidade de quebrar as ligações de hidrogênio e hidrolisar as ligações éster, resultando no inchaço da celulose e diminuindo sua cristalinidade. Além disso, soluções de substâncias alcalinas e etanol conseguem diminuir a recalcitrância natural das paredes celulares das células vegetais (WEI et al., 2018).

Após sua secagem em estufa a 45 °C, a xilana obtida dos pré-tratamentos com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 % e 10 % apresentou uma coloração amarelada e consistência quebradiça. Foram necessárias quatro lavagens com etanol para clarificar o hidrolisado. A clarificação é uma evidência da eliminação da maior parte da lignina do hidrolisado e da xilana. Já a xilana extraída com NaOH 10 % e KOH 10 % apresentou uma coloração preta e consistência dura. Foram necessárias até dez lavagens com etanol para eliminar a maior parte da lignina presente no hidrolisado. Atualmente, para reduzir custos de produção, existe um esforço em diminuir essas lavagens com etanol (FIGUEIREDO, 2016).

Nesse sentido, se considerados os maiores rendimentos de extração de xilana e o número de lavagens com etanol, o pré-tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % é o que rende maior proporção de xilana em relação ao número de lavagens necessárias ao processo.

### 5.2.2 Caracterização química da xilana

Na Tabela 5 estão os resultados da caracterização química da xilana extraída do bagaço, colmo e folha do sorgo sacarino com os pré-tratamentos alcalinos.

Tabela 5. Composição química da xilana do sorgo sacarino.

Pré-tratamento	Composição Química (%)	MATERIAL		
		Bagaço	Colmo	Folha
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 6%	Glicose	5,49 ± 1,17 <sup>A a</sup>	5,74 ± 0,53 <sup>A a</sup>	6,39 ± 0,77 <sup>A a</sup>
	Xilose	40,23 ± 6,24 <sup>A a</sup>	34,46 ± 7,91 <sup>A a</sup>	38,81 ± 4,09 <sup>A a</sup>
	Arabinose	5,18 ± 1,08 <sup>A a</sup>	7,10 ± 1,56 <sup>A a</sup>	9,01 ± 1,0 <sup>A a</sup>
	Ácido acético	-	-	-
	Lignina Total	11,73 ± 2,24 <sup>A a</sup>	9,63 ± 2,63 <sup>A a</sup>	14,77 ± 2,71 <sup>A a</sup>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 10%	Glicose	3,19 ± 0,73 <sup>B a</sup>	6,80 ± 1,51 <sup>A b</sup>	7,78 ± 1,44 <sup>A b</sup>
	Xilose	44,73 ± 8,55 <sup>A a</sup>	41,21 ± 7,08 <sup>A a</sup>	51,99 ± 9,26 <sup>A a</sup>
	Arabinose	4,53 ± 1,01 <sup>A a</sup>	6,26 ± 1,17 <sup>A b</sup>	10,24 ± 1,94 <sup>A b</sup>
	Ácido acético	-	-	-
	Lignina Total	5,82 ± 1,12 <sup>A a</sup>	6,64 ± 1,92 <sup>A a</sup>	10,92 ± 2,19 <sup>A b</sup>
NaOH 10%	Glicose	3,01 ± 0,81 <sup>B a</sup>	6,71 ± 0,56 <sup>A a</sup>	4,94 ± 1,38 <sup>A a</sup>
	Xilose	71,90 ± 4,83 <sup>B a</sup>	72,52 ± 5,48 <sup>B a</sup>	37,31 ± 3,61 <sup>A b</sup>
	Arabinose	6,66 ± 1,21 <sup>A a</sup>	8,04 ± 0,55 <sup>A a</sup>	7,13 ± 2,24 <sup>A a</sup>
	Ácido acético	-	-	-
	Lignina Total	8,44 ± 1,94 <sup>A a</sup>	5,50 ± 0,38 <sup>A b</sup>	9,66 ± 1,47 <sup>A a</sup>

Pré-tratamento	Composição Química (%)	MATERIAL		
		Bagaço	Colmo	Folha
KOH 10%	Glicose	2,40 ± 0,67 <sup>B a</sup>	4,50 ± 0,84 <sup>A a</sup>	3,77 ± 1,32 <sup>A a</sup>
	Xilose	60,84 ± 2,81 <sup>C a</sup>	54,25 ± 10,55 <sup>A a</sup>	45,46 ± 15,8 <sup>A a</sup>
	Arabinose	6,28 ± 0,56 <sup>A a</sup>	6,20 ± 1,28 <sup>A a</sup>	7,05 ± 2,59 <sup>A a</sup>
	Ácido acético	-	-	-
	Lignina Total	11,78 ± 1,42 <sup>A a</sup>	9,03 ± 2,52 <sup>A a</sup>	14,59 ± 3,18 <sup>A a</sup>

\* (-) não detectado /Resultados com diferentes letras minúsculas (a, b, c) na mesma linha indicam diferença estatística entre os materiais. Resultados com diferentes letras maiúsculas (A, B, C) na mesma coluna indicam diferença estatística entre os pré-tratamentos.

As xilanas extraídas apresentam composição química parecida entre si. As maiores porcentagens foram para a xilose, o principal açúcar da xilana. A porcentagem de glicose e arabinose foram menores e a de lignina diminuiu se comparada aos valores do sorgo *in natura*.

Na hemicelulose, o rendimento de xilose e arabinose determina o grau de ramificação. Altos graus de polimerização e cadeias poliméricas curtas ocorrem devido à menor proporção e vice-versa (VELMURUGAN et al., 2020).

Na xilana, as maiores porcentagens de xilose foram daquelas extraídas do bagaço e colmo com NaOH 10 %. As porcentagens de glicose, arabinose e lignina total foram estatisticamente semelhantes considerando-se os três materiais e os quatro pré-tratamentos.

Os valores de xilose foram pouco menores e os valores de arabinose foram estatisticamente semelhantes aos apresentados por Wei et al. (2018), que relataram na hemicelulose, porcentagens de 79 % de xilose, 5,3 % de arabinose, 1,7 % de glicose e 5,6 % de lignina e cinzas (extração com NaOH 12 %, 80 °C, 4 h). Usando outro método, os autores relataram na xilana, a proporção de 63,6 % de xilose, 5,7 % de arabinose, 0,5 % de glicose e 11 % de lignina e cinzas (extração com KOH 2 %, 75 °C, 3 h). No pré-tratamento com KOH 10 %, as porcentagens de xilose na xilana foram estatisticamente semelhantes os apresentados. De acordo com os autores, se comparados os dois métodos usados, o pré-tratamento com NaOH foi mais eficiente em extrair a xilana da biomassa, mas ambos extraíram xilana com predominância de xilose. Esta situação também foi identificada no presente estudo se considerados os pré-tratamentos do bagaço e colmo com NaOH 10 % e KOH 10 %. Com a folha os valores foram estatisticamente semelhantes nesta mesma situação.

Li et al. (2015), usando pré-tratamento fracionado com sete etapas sequenciais relataram que o pré-tratamento com água quente liberou porcentagens de 56,45 % de glicose, 26,83 % de xilose, 6,72 % de galactose e 6,62 % de arabinose. Segundo os autores, o resultado indicou a presença de glucanas propensas à dissolução em água. Nos pré-tratamentos com dioxano e DMSO, a xilose foi o principal açúcar liberado das frações hemicelulósicas (51,33 % e 58,5 % respectivamente) com quantidades menores de arabinose e glicose. Por causa desses resultados, os autores sugerem que a hemicelulose era rica em glucoronoxilanas e arabinoxilanas. Nas quatro frações pré-tratadas com NaOH, a xilose foi o açúcar predominante (61,8 % - 76 %) seguida da arabinose. O aumento da concentração de NaOH de 0,5 % para 1,5 % aumentou o conteúdo de xilose de 61,8 % para 76 %, mas diminuiu as porcentagens de glicose e arabinose. À medida que a concentração de NaOH aumentou para 3 % e 6 %, o conteúdo de xilose diminuiu para 74,3 % e 74,8 %, sem diminuição de arabinose e glicose.

Os resultados sugerem que o pré-tratamento com menor concentração de NaOH favoreceu a extração de grupos constituintes das ramificações da xilana enquanto a maior concentração de NaOH provocou a hidrólise da cadeia principal da xilana. Além disso, a maior concentração de NaOH liberou hemicelulose com menor grau de ramificação devido aos baixos rendimentos de arabinose e xilose. Observou-se um aumento da porcentagem de glicose conforme a concentração de NaOH subiu de 3 % para 6 %, provavelmente fruto da degradação de regiões amorfas da celulose (LI et al., 2015).

Nesse sentido, não houve esse tipo de situação nos pré-tratamentos com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 % e 10 %. Ao elevar a proporção do reagente, não houve elevação das proporções de xilose e arabinose que apresentaram resultados estatisticamente semelhantes em relação aos materiais e pré-tratamentos. Já no pré-tratamento do bagaço e colmo com NaOH 10 %, o aumento da proporção de xilose pode indicar que o pré-tratamento foi efetivo em atacar a cadeia principal da hemicelulose, principalmente aquelas com menor grau de polimerização e maior grau de ramificações.

O presente estudo, considerando o rendimento de extração e a composição química da xilana extraída do bagaço e colmo com NaOH 10 %, indica essa condição como a mais efetiva na extração de xilana, principalmente se for utilizada posteriormente para fins de hidrólise enzimática, devido à sua proporção de xilose presente na xilana.

### 5.2.3 Recuperação de massa do material pré-tratado

Os valores para a recuperação de massa dos materiais pré-tratados estão expressos na Tabela 6. A partir dos pré-tratamentos, pode-se realizar uma quantificação de biomassa resultante após extração/solubilização de hemicelulose e lignina. Assim, foi possível estabelecer a porcentagem de rendimento do material pré-tratado ou recuperação de massa.

Tabela 6. Recuperação de massa dos pré-tratamentos alcalinos.

<b>Pré-tratamento</b>	<b>Amostra</b>	<b>Recuperação de massa (%)</b>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6%</b>	<b>Bagaço</b>	57,20 ± 1,35 <sup>A a</sup>
	<b>Colmo</b>	53,93 ± 1,05 <sup>A b</sup>
	<b>Folha</b>	47,30 ± 1,57 <sup>A c</sup>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10%</b>	<b>Bagaço</b>	45,63 ± 1,85 <sup>B a</sup>
	<b>Colmo</b>	45,27 ± 0,58 <sup>B a</sup>
	<b>Folha</b>	36,90 ± 1,60 <sup>B b</sup>
<b>NaOH 10%</b>	<b>Bagaço</b>	46,00 ± 1,51 <sup>B a</sup>
	<b>Colmo</b>	37,67 ± 1,27 <sup>C b</sup>
	<b>Folha</b>	33,67 ± 2,28 <sup>C c</sup>
<b>KOH 10%</b>	<b>Bagaço</b>	50,73 ± 1,30 <sup>C a</sup>
	<b>Colmo</b>	42,57 ± 1,00 <sup>D b</sup>
	<b>Folha</b>	38,77 ± 1,10 <sup>B c</sup>

\* Resultados com diferentes letras minúsculas (a, b, c) na mesma linha indicam diferença estatística entre os materiais. Resultados com diferentes letras maiúsculas (A, B, C) na mesma coluna indicam diferença estatística entre os pré-tratamentos.

Nos pré-tratamentos com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 %, NaOH 10 % e KOH 10 % houve maior recuperação de massa com o bagaço, seguido do colmo e da folha, com a menor recuperação. No pré-tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %, a recuperação de massa foi estatisticamente semelhante no bagaço e colmo e menor na folha. A maior recuperação de massa com o bagaço, pode ser uma evidência da sua maior recalcitrância, como observado o teor de lignina (Tabela 3).

Cardoso et al. (2013) citaram média de recuperação de massa de 38 % com folha de sorgo submetida ao pré-tratamento alcalino (NaOH 5 %, 120°C, 15 e 30 minutos). Esse valor foi maior que o do presente estudo se comparado à recuperação de massa da folha no pré-tratamento com NaOH 10 %, estatisticamente semelhante dos valores dos pré-tratamentos com KOH 10% e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % e menor que o resultado do pré-tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 %.

A recuperação de massa pode ser um indicativo da recalcitrância do material, sendo a

menor perda de massa associada ao material mais recalcitrante (BENJAMIN; CHENG; GÖRGENS, 2013). Nesse sentido, a folha mostrou-se o material menos recalcitrante do sorgo sacarino e o bagaço foi o material mais recalcitrante. Os dados da caracterização química do material *in natura* demonstram que o bagaço e a folha são os materiais com a maior e a menor porcentagem de lignina total, vindo provavelmente desse fato a maior e a menor recalcitrância desses materiais.

No pré-tratamento da folha com NaOH 10 % houve a menor recuperação de massa. O método, portanto, se mostra o mais eficaz em desfazer a estrutura da biomassa lignocelulósica desse material. Já no pré-tratamento do bagaço com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 % houve a maior recuperação de massa. O método foi o menos eficaz em desfazer a estrutura da biomassa lignocelulósica desse material. Um pré-tratamento obtém menor recuperação de massa quando possui grande capacidade de solubilizar hemicelulose e lignina e separá-las da celulose. Nessa situação, o pré-tratado resultante do processo apresenta pequenas porcentagens de hemicelulose e lignina e possui um resíduo rico em celulose livre dos componentes que impedem sua desestruturação durante a hidrólise enzimática

#### 5.2.4. Caracterização química do material pré-tratado

Os resultados da caracterização química do material pré-tratado do bagaço, colmo e folha em pré-tratamentos alcalinos estão expressos na Tabela 7.

Tabela 7. Composição química dos pré-tratados com métodos alcalinos.

Pré-tratamento	Composição Química (% massa seca)	MATERIAL		
		Bagaço	Colmo	Folha
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 6%	Glucana	53,74 ± 5,67 <sup>A a</sup>	37,83 ± 10,28 <sup>A a</sup>	47,35 ± 4,07 <sup>A a</sup>
	Hemicelulose Total	24,06 ± 1,65 <sup>A a</sup>	19,60 ± 5,92 <sup>A a</sup>	19,59 ± 1,63 <sup>A a</sup>
	Lignina Total	13,86 ± 0,38 <sup>A a</sup>	13,17 ± 4,17 <sup>A a</sup>	9,20 ± 1,30 <sup>A b</sup>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 10%	Glucana	46,03 ± 3,65 <sup>A a</sup>	60,17 ± 2,52 <sup>B b</sup>	61,82 ± 8,66 <sup>B b</sup>
	Hemicelulose Total	9,92 ± 0,79 <sup>B a</sup>	17,63 ± 0,66 <sup>A b</sup>	14,86 ± 0,52 <sup>B c</sup>
	Lignina Total	11,56 ± 1,59 <sup>A a</sup>	9,75 ± 2,09 <sup>A a</sup>	13,90 ± 1,70 <sup>A a</sup>
NaOH 10%	Glucana	54,56 ± 1,85 <sup>A a</sup>	53,19 ± 4,16 <sup>A a</sup>	43,83 ± 9,77 <sup>A a</sup>
	Hemicelulose Total	7,42 ± 1,53 <sup>B a</sup>	4,90 ± 0,27 <sup>B b</sup>	4,5 ± 1,0 <sup>C b</sup>
	Lignina Total	17,20 ± 1,93 <sup>A a</sup>	13,95 ± 2,96 <sup>A b</sup>	9,40 ± 1,14 <sup>A b</sup>

Pré-tratamento	Composição Química (% massa seca)	MATERIAL		
		Bagaço	Colmo	Folha
KOH 10%	Glucana	40,48 ± 13,43 <sup>A a</sup>	44,05 ± 7,89 <sup>A a</sup>	48,22 ± 1,04 <sup>A a</sup>
	Hemicelulose Total	7,37 ± 2,78 <sup>B a</sup>	8,32 ± 1,44 <sup>C a</sup>	9,27 ± 0,46 <sup>D a</sup>
	Lignina Total	18,37 ± 5,79 <sup>A a</sup>	14,83 ± 3,06 <sup>A a</sup>	11,32 ± 2,17 <sup>A a</sup>

\* Resultados com diferentes letras minúsculas (a, b, c) na mesma linha indicam diferença estatística entre os materiais. Resultados com diferentes letras maiúsculas (A, B, C) na mesma coluna indicam diferença estatística entre os pré-tratamentos.

O colmo e a folha pré-tratados, após extração da xilana com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % apresentaram as maiores porcentagens de glucana. Para a hemicelulose total, as menores porcentagens ocorreram com o colmo e a folha pré-tratada com NaOH 10 %. Os valores de lignina total foram estatisticamente semelhantes em todas as amostras.

De forma geral, a porcentagem de glucana aumentou e a porcentagem de hemicelulose total e lignina diminuiu nos materiais pré-tratados em relação aos materiais *in natura* (Tabela 3). As porcentagens de glucana aumentaram 11,74 % no bagaço, 15,58 % no colmo e 43,34 % na folha e as porcentagens de xilana e lignina diminuíram respectivamente 55,49 % e 41,87 % no bagaço, 49,11 % e 38,24 % no colmo e 50,35 % e 45,05 % na folha. Esse resultado era esperado, pois os pré-tratamentos alcalinos provocam a quebra da ligação éster, resultando na alteração da estrutura da lignina e remoção parcial da hemicelulose (MELATI et al., 2019; ALVES, 2018).

A diminuição da porcentagem de hemicelulose nos materiais pré-tratados em relação aos materiais *in natura* indica a eficácia do método em extrair a xilana da biomassa. Nas situações em que a porcentagem de hemicelulose nos pré-tratados foi baixa, como no caso do colmo e folha pré-tratados com NaOH 10 %, o rendimento de extração de xilana foi relativamente alto, mostrando a eficácia do método na remoção da hemicelulose da biomassa do sorgo sacarino. Já nos casos em que a porcentagem de hemicelulose nos pré-tratados foi alta, como no pré-tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6%, o rendimento de extração de xilana foi o menor de todos. Este resultado corrobora a menor eficácia desse pré-tratamento na extração de xilana do sorgo sacarino.

O aumento da celulose e a diminuição da lignina nos materiais pré-tratados possibilita que, na hidrólise enzimática, uma maior quantidade de material fique acessível e possa ser hidrolisado pela celulase se comparado com os materiais *in natura* (SHIMIZU et al., 2020). Isso aumenta a quantidade de substrato para a produção de etanol em processos fermentativos (CAO et al., 2016). Para fins de hidrólise enzimática, é interessante que o resíduo rico em

celulose tenha baixas proporções de lignina e hemicelulose, pois a remoção de hemicelulose aumenta o rendimento da hidrólise enzimática da celulose. Além disso, ligninas também devem ser removidas porque a celulase tem aminoácidos hidrofóbicos que podem interagir com a superfície da lignina, causando inativação da enzima durante a hidrólise e reduzindo a eficiência do processo catalítico (OGEDA; PETRI, 2010; SCHMATZ; TYHODA; BRIENZO, 2020).

Os resultados do presente trabalho demonstram que os pré-tratados do colmo e da folha com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % são os mais indicados no uso como substrato para hidrólise enzimática e produção de glicose para processos fermentativos, principalmente pela maior porcentagem de celulose nos materiais, já que a porcentagem de lignina mostrou-se estatisticamente semelhante entre os pré-tratados.

### 5.3 Extração de hemicelulose em meio ácido

#### 5.3.1 Caracterização química da fração líquida

Na Tabela 8 está demonstrada a caracterização das frações líquidas do pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído do bagaço, colmo e folha do sorgo sacarino, evidenciando o conteúdo de glicose, xilose, arabinose e ácido acético. Esses componentes representam os principais compostos solubilizados da biomassa lignocelulósica nesse tipo de pré-tratamento (OLIVEIRA; ROSSEL; MACIEL-FILHO, 2017).

Tabela 8. Rendimento de açúcares e ácido acético no pré-tratamento com ácido diluído.

Concentração (g/ L)	MATERIAL		
	Bagaço	Colmo	Folha
Glicose	1,24 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,90 ± 1,01 <sup>a</sup>	2,83 ± 0,49 <sup>a</sup>
Xilose	14,74 ± 1,63 <sup>a</sup>	10,20 ± 5,36 <sup>a</sup>	19,28 ± 2,82 <sup>b</sup>
Arabinose	1,40 ± 0,17 <sup>a</sup>	1,42 ± 0,72 <sup>a</sup>	3,85 ± 0,72 <sup>b</sup>
Ácido acético	1,46 ± 0,21 <sup>a</sup>	1,66 ± 0,90 <sup>a</sup>	2,11 ± 0,45 <sup>a</sup>

\* Resultados com diferentes letras (a, b, c) na mesma linha indicam diferença estatística entre os materiais.

As concentrações de glicose e ácido acético são estatisticamente iguais nos três materiais. A folha foi o material que apresentou maior concentração de xilose e arabinose, 19,28 g/L e 3,85 g/L, respectivamente.

Camargo et al. (2019) obtiveram do bagaço de sorgo os seguintes valores para açúcares e ácido acético: 2,42 g/L de glicose, 14,22 g/L de xilose, 0,95 g/L de arabinose e 1,34 g/L de ácido acético ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,75 %, 121 °C, 40 min) e no presente estudo os resultados são próximos aos citados pelo autor. Partida-Sedas et al. (2016) utilizando bagaço de sorgo determinou valores de glicose e xilose em 11,55 g/L e 41,27 g/L ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,75 %, 36 min), sendo estes maiores que o do presente estudo.

Téllez-Luis, Ramirez e Vásquez (2002) obtiveram do pré-tratamento da folha de sorgo os seguintes resultados para açúcares e ácido acético: 6,73 g/L de glicose; 18,17 g/L de xilose e 1,51 g/L de ácido acético ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 %, 122 °C, 71 min). Herrera et al. (2003) obtiveram valores de 3,8 g/L de glicose, 16,2 g/L de xilose e 1,9 g/L de ácido acético (HCl 6 %, 122 °C, 70 min). O presente estudo obteve valores menores para a glicose e ácido acético e maiores para xilose comparados aos autores citados. Estudando a folha de sorgo, Herrera et al. (2004) obtiveram valores de 4,7 g/L de glicose, 21,3 g/L de xilose e 2,8 g/L de ácido acético (HCl 6 %, 100 °C, 83 min), todos superiores aos do presente estudo.

Yu et al (2012) pré-trataram o colmo de sorgo sacarino e obtiveram 32 g/L de glicose, 11,2 g/L de xilose, 2,5 g/L de arabinose e 3,8 g/L de ácido acético (ácido acético 0,2 % m/v, 170 °C, 10 min). Os valores de glicose e ácido acético foram menores e de xilose foi maior aos determinados no presente ensaio. Zhang et al. (2014) obtiveram no colmo 23,9 g/L de xilose e 2,52 g/L de ácido acético ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,75 %, 140 °C, 10 min), ambos valores superiores aos do presente estudo.

No presente estudo a maior solubilização de açúcares foi para os componentes da hemicelulose (xilose principalmente), o que é característico do pré-tratamento ácido diluído (ALVES, 2018). As concentrações de glicose foram baixas, não passando de 2,83 g/L o que demonstra que em condições de ácido diluído a celulose foi pouco afetada (CAMARGO et al., 2019). Apenas quando as condições de temperatura do pré-tratamento aumentam (acima de 150 °C) é que a concentração de glicose também começa a aumentar (LIU et al., 2012).

Principalmente devido as concentrações de xilose e arabinose presentes no hidrolisado da folha do sorgo sacarino, os resultados demonstram que esse é o material mais indicado para a produção de açúcares provenientes da hidrólise da hemicelulose usando o pré-tratamento com ácido diluído.

### 5.3.2 Recuperação de massa do material pré-tratado com ácido diluído

Na Tabela 9 encontram-se os valores para a recuperação de massa do bagaço, colmo e folha do sorgo sacarino pré-tratado com ácido diluído. No pré-tratamento com ácido diluído a maior recuperação de massa ocorreu com o bagaço, 64,4 %, e as menores com a folha, 57,33 %, e o colmo, 54,73%, os quais apresentaram resultados estatisticamente semelhantes.

Tabela 9. Recuperação de massa do pré-tratado com ácido diluído.

<b>Pré-tratamento</b>	<b>Material</b>	<b>Recuperação de massa</b>
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%</b>	<b>Bagaço</b>	64,40 ± 2,11 <sup>a</sup>
	<b>Colmo</b>	54,73 ± 1,81 <sup>b</sup>
	<b>Folha</b>	57,33 ± 1,15 <sup>b</sup>

\* Resultados com diferentes letras (a, b, c) na mesma coluna indicam diferença estatística entre os materiais.

Cardoso et al. (2013) citaram média de recuperação de massa de 51 % com folha de sorgo submetida ao pré-tratamento ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 g/L, 120 °C, 15 e 30 minutos). Observa-se que o resultado da literatura foi menor que o do presente estudo.

Como na recuperação de massa dos pré-tratamentos alcalinos, os resultados são coerentes quando relacionados à porcentagem de lignina total desses materiais *in natura*, demonstrando que o maior teor de lignina no bagaço torna o material mais recalcitrante e, portanto, aquele que apresenta maior recuperação de massa também no pré-tratamento com ácido diluído.

Comparada a recuperação de massa dos pré-tratamentos alcalinos (Tabela 6), os valores da recuperação de massa no pré-tratamento com ácido diluído (Tabela 9) foram maiores. A exceção foi observada para o colmo pré-tratado com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 %, com um resultado estatisticamente semelhante comparado ao mesmo material no pré-tratamento ácido.

### 5.3.3 Caracterização química do material pré-tratado com ácido diluído

Na tabela 10 encontram-se os resultados da caracterização química do material pré-tratado que foi realizada a fim de determinar sua proporção de celulose (glucana), hemicelulose (xilana, arabinana e ácido acético) e lignina total. As porcentagens de glucana e lignina foram estatisticamente semelhantes para os três materiais. As porcentagens de hemicelulose total foram estatisticamente iguais no bagaço e colmo e maiores que na folha.

Tabela 10. Composição química do resíduo pré-tratado com ácido diluído.

Pré-tratamento	Composição Química (% massa seca)	Material		
		Bagaço	Colmo	Folha
	Glucana	49,44 ± 4,94 <sup>a</sup>	50,36 ± 3,13 <sup>a</sup>	44,71 ± 5,28 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1%	Hemicelulose Total	7,63 ± 0,59 <sup>a</sup>	7,52 ± 0,79 <sup>a</sup>	5,69 ± 0,66 <sup>b</sup>
	Lignina Total	29,48 ± 6,25 <sup>a</sup>	35,34 ± 7,80 <sup>a</sup>	34,62 ± 7,44 <sup>a</sup>

\* Resultados com diferentes letras (a, b, c) na mesma linha indicam diferença estatística entre os materiais.

Poonsrisawat et al., (2013) relataram, na folha de sorgo sacarino pré-tratada (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3 %, 120 °C, 10 minutos), porcentagens de 69,5 % de celulose (glucana), de 0,44 % de hemicelulose (xilana) e de 19,53 % de lignina. Os valores de celulose foram maiores e de hemicelulose e lignina foram menores que os do presente estudo.

Para o bagaço do sorgo sacarino pré-tratado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 %, 180 °C, 5 minutos), Wang, Luo e Shahbazi (2013) relataram porcentagens de 65,8 % de celulose (glucana), 34,8 % de lignina e completa remoção de hemicelulose. Os valores de celulose e lignina foram maiores e de hemicelulose menores que os do presente estudo.

No colmo do sorgo sacarino pré-tratado, Yu et al., (2012) relataram porcentagens de 42,6 % de celulose (glucana), de 11,3 % de hemicelulose (xilana) e de 41,6 % de lignina. Os valores de celulose foram menores e de hemicelulose e lignina maiores que os do presente estudo.

Em relação aos materiais *in natura*, assim como ocorreu com os pré-tratados dos métodos alcalinos (Tabela 7), houve um aumento da porcentagem de glucana e uma diminuição da porcentagem de hemicelulose. Já a porcentagem de lignina, diferentemente do que ocorreu

nos pré-tratamentos alcalinos, aumentou nos pré-tratados com ácido diluído. Para o bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com ácido diluído, Brienzo et al. (2017) relataram situação idêntica, com diminuição das porcentagens de hemicelulose e aumento das porcentagens de celulose e lignina no material.

O pré-tratamento com ácido diluído hidrolisa a hemicelulose, pois há uma evidente diminuição da sua porcentagem no pré-tratado, porém, consideravelmente sem hidrolisar a celulose e sem remover a lignina, haja visto o aumento das porcentagens dessas substâncias no material pré-tratado (WU et al., 2011). No hidrolisado, a concentração de glicose foi relativamente baixa e de xilose é relativamente alta (Tabela 8), o que comprova esta situação.

A folha pré-tratada foi o material que apresentou a menor porcentagem de hemicelulose. De acordo com o presente estudo, devido ao menor teor de lignina, a folha é o material menos recalcitrante do sorgo sacarino, principalmente se comparada com o bagaço. Isso justifica a menor proporção de hemicelulose no pré-tratado, provavelmente devido ao fato da hemicelulose ter sofrido maior grau de hidrólise no material. Outra situação que corrobora essa conclusão é o fato da folha apresentar o maior teor de xilose no hidrolisado do pré-tratamento (Tabela 8).

#### 5.4 Hidrólise enzimática do resíduo sólido

Na Tabela 11 estão especificados os valores de rendimento de glicose da hidrólise enzimática do resíduo pré-tratado do bagaço, colmo e folha do sorgo sacarino provenientes dos tratamentos alcalinos e ácido.

Tabela 11. Conversão de celulose em glicose na hidrólise enzimática.

<b>Conversão da celulose (%)</b>			
<b>Pré-tratamento</b>	<b>Material</b>		
	<b>Bagaço</b>	<b>Colmo</b>	<b>Folha</b>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6%</b>	32,96 ± 5,55 <sup>C a</sup>	50,42 ± 13,91 <sup>B a</sup>	58,41 ± 3,62 <sup>B a</sup>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10%</b>	92,58 ± 15,85 <sup>A a</sup>	87,95 ± 6,39 <sup>A a</sup>	91,12 ± 4,09 <sup>A a</sup>
<b>NaOH 10%</b>	52,27 ± 5,82 <sup>B b</sup>	91,21 ± 5,17 <sup>A a</sup>	54,63 ± 5,35 <sup>B a</sup>

<b>Conversão da celulose (%)</b>			
<b>Pré-tratamento</b>	<b>Material</b>		
	<b>Bagaço</b>	<b>Colmo</b>	<b>Folha</b>
<b>KOH 10%</b>	82,85 ± 6,28 <sup>A a</sup>	83,03 ± 7,81 <sup>A a</sup>	84,06 ± 6,35 <sup>A a</sup>
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%</b>	20,69 ± 5,54 <sup>D c</sup>	29,58 ± 2,98 <sup>C b</sup>	58,63 ± 2,77 <sup>B a</sup>

\* Resultados com diferentes letras minúsculas (a, b, c) na mesma linha indicam diferença estatística entre os materiais. Resultados com diferentes letras maiúsculas (A, B, C) na mesma coluna indicam diferença estatística entre os pré-tratamentos.

Considerando os três materiais e todos os pré-tratamentos aplicados, as maiores conversões de celulose em glicose foram obtidas nos pré-tratamentos com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % e KOH 10 % e no pré-tratamento do colmo com NaOH 10 %. Para todas essas situações os valores são estatisticamente semelhantes. Os valores mais baixos foram obtidos nos pré-tratamentos com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 % e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 % e no pré-tratamento do bagaço e da folha com NaOH 10 %.

Zhang et al. (2011), realizaram a hidrólise enzimática (tampão citrato 0,05 mol/L, 50 °C, 20 FPU/g, 72 h) do bagaço de sorgo sacarino pré-tratado por diferentes métodos. No pré-tratado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 % (20 min., temperatura ambiente e posterior autoclave por 10 min., 180 °C), relataram 50 % de conversão da celulose. Este resultado é maior que o do presente estudo se comparado ao mesmo material pré-tratado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%. Usando pré-tratamentos com líquidos iônicos (45 g [BMIM] Cl; 110 °C; 120 rpm, 1 h) e alcalino (CaCO<sub>3</sub> 1,5 % m/v, 121 °C, 1 h), a conversão foi de 40 % e para o pré-tratado com explosão à vapor a conversão foi de 70 %. No presente estudo, os pré-tratados do bagaço com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % e KOH 10 % apresentaram valores de conversões maiores que os relatados acima.

Reis et al., (2016) obtiveram 88,07 % de conversão na hidrólise enzimática (tampão citrato 0,05 mol/L, 50 °C, 20 FPU/g, 48 h, 150 rpm) do resíduo do bagaço de sorgo sacarino pré-tratado (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 7,5 % v/v, pH 11.5 ajustado com NaOH 5 mol/L, 1 h, 150 rpm e temperatura ambiente). No pré-tratado do bagaço com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %, o valor de conversão foi estatisticamente semelhante e no pré-tratado do bagaço com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 %, o valor de conversão foi menor que o apresentado pela literatura.

Wu et al., (2011), ao realizarem hidrólise enzimática (tampão citrato 50 mmol/L, 50 °C, 20 FPU/g, 96 h) em resíduo sólido do bagaço pré-tratado (NaOH 2,5 mol/L, 120 minutos, temperatura ambiente) de duas variedades de sorgo sacarino, relataram uma conversão de

glicose de 90 % (variedade *SIL05*) e 98,7 % (variedade *Kyushuko4*). Já CAO et al., (2012), realizando a hidrólise enzimática (tampão citrato 50 mmol/L, 50 °C, 20 FPU/g, 96 h) dos resíduos sólidos do bagaço de sorgo sacarino provenientes de cinco diferentes pré-tratamentos, relataram conversão de até 74,29 % (pré-tratamento NaOH 2 % m/v, 5 min. mais autoclave à 121 °C, 60 min. e após resfriamento adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 % (m/v) temperatura ambiente no escuro, 24 h).

Pengilly et al., (2015), realizando hidrólise enzimática (tampão citrato, 50 °C, 15 FPU/g, 120 h, 90 rpm) em resíduo sólido de bagaço de sorgo sacarino pré-tratado com explosão à vapor (200 °C, 5 min.), relataram conversão de glicose de 85,12 %.

Os pré-tratados provenientes do tratamento com ácido diluído resultaram em menores conversões. Analisando os resultados da caracterização química dos pré-tratados com ácido diluído, percebe-se que a quantidade de lignina é bem maior que dos pré-tratados com os métodos alcalinos. Na verdade, o pré-tratamento ácido não remove a lignina (CARDOSO et al., 2013; SCHMATZ, TYHODA, BRIENZO, 2020) e também hidrolisa as regiões amorfas da celulose, conseqüentemente, aumentando sua cristalinidade (TANG et al., 2011). As duas situações, maior teor de lignina e cristalinidade, dificultam o acesso das enzimas durante a hidrólise enzimática, diminuindo a eficácia do processo. Portanto, era de se esperar que a hidrólise enzimática fosse menos efetiva nos pré-tratados com ácido diluído devido à maior quantidade de lignina presente.

Wu et al. (2011) também relataram menor conversão em pré-tratados com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,5%, 20-60 min., 170 °C) em comparação com método alcalino (NaOH 2,5 mol/L, 120 minutos, temperatura ambiente). De acordo com os autores, o pré-tratamento com ácido diluído hidrolisa muito bem a hemicelulose, porém, não remove a lignina e não ataca a estrutura cristalina da celulose com a mesma eficiência que os pré-tratamentos alcalinos, concluindo que a hemicelulose contribuiu de forma relativamente pequena para a recalcitrância da hidrólise, enquanto a lignina afetou decisivamente a digestibilidade enzimática da celulose.

Ainda considerando o pré-tratamento ácido e comparando os três materiais, a maior conversão de celulose em glicose ocorreu com a folha e a menor com o bagaço. Como a caracterização química dos materiais *in natura* mostrou que o bagaço possui maior quantidade de lignina que a folha, poderia-se concluir que esse fato teria sido determinante para que a conversão fosse maior na folha que no bagaço. Contudo, se considerada a caracterização química do pré-tratado, percebe-se que a quantidade de lignina é estatisticamente semelhante nos três materiais. A principal diferença entre os materiais está na quantidade de hemicelulose total, que é maior no pré-tratado do bagaço que na folha. Conclui-se, portanto, que a menor proporção de hemicelulose na folha pré-tratada facilitou o acesso das enzimas, proporcionando maior conversão de celulose em glicose.

Os materiais pré-tratados provenientes do pré-tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 % também renderam baixas concentrações de glicose em comparação à hidrólise enzimática dos demais pré-tratamentos alcalinos aplicados. Nesses pré-tratados, a quantidade de lignina foi estatisticamente semelhante entre os materiais e entre os métodos usados. Porém, se considerarmos a quantidade de hemicelulose total, no geral ela foi maior nos pré-tratados com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 %, provavelmente porque as ligações entre a celulose-hemicelulose não foram quebradas de forma efetiva, impedindo também o acesso das enzimas às fibras de celulose.

Se comparadas as conversões da hidrólise enzimática com as taxas do rendimento de xilana, percebe-se que os pré-tratados com maior taxa de conversão são provenientes dos métodos que também apresentaram os maiores rendimentos de xilana. Relacionando este fato com os resultados da caracterização química dos materiais pré-tratados, fica evidente que o pré-tratamento com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % foi menos efetivo em solubilizar tanto a hemicelulose como a lignina e separá-las da celulose, pois os teores desses compostos nos pré-tratados foram maiores se comparados com os pré-tratamentos com NaOH e KOH 10 %.

Entretanto, o teor de celulose também foi maior nos pré-tratados com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 % e é possível que a maior proporção de hemicelulose e lignina tenha sido compensada pelo maior teor de celulose no material pré-tratado com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 %, o que fez as conversões da hidrólise enzimática tenham sido estatisticamente semelhantes aos pré-tratados com NaOH 10 % e KOH 10 %.

No pré-tratado com NaOH 10 %, o colmo foi o material onde houve maior conversão de celulose em glicose, enquanto que no bagaço e na folha o rendimento foi menor. Como o colmo pré-tratado com NaOH 10 % apresentou o maior rendimento de xilana do presente estudo, é possível que isso tenha influenciado o rendimento da hidrólise enzimática, pois a extração da xilana pode ter possibilitado o acesso das enzimas às fibras de celulose. A

caracterização química demonstra que a quantidade de hemicelulose e lignina no pré-tratado do colmo é bem menor se comparada ao pré-tratado do bagaço, o que pode confirmar a hipótese. Esse fato não ocorre na comparação dos pré-tratados do colmo e folha.

## 6 CONCLUSÕES

As três biomassas do sorgo sacarino utilizadas no presente estudo, bagaço, colmo e folha apresentaram altos rendimentos de hemicelulose. Os rendimentos foram superiores a 90 % para o colmo submetido ao pré-tratamento com hidróxido de sódio 10 % e para o colmo e folha submetidos ao pré-tratamento com peróxido de hidrogênio 10 % e rendimentos acima de 80 % no bagaço e folha submetidos ao pré-tratamento com hidróxido de sódio 10 % e no bagaço submetido ao pré-tratamento com peróxido de hidrogênio 10 %. Essas condições são as mais indicadas para a extração de hemicelulose do sorgo sacarino.

As xilanas com as maiores proporções de xilose foram obtidas do bagaço e do colmo no pré-tratamento com hidróxido de sódio 10 %, sendo as mais indicadas para uso na hidrólise enzimática por xilanases. Entretanto, as xilanas extraídas com peróxido de hidrogênio 10 % precisaram de menos etapas de lavagem com etanol para a sua separação da lignina, podendo diminuir os custos de produção durante a extração.

No pré-tratamento com ácido diluído, a folha foi o material na qual houve os maiores rendimentos de xilose, arabinose e glicose. Sendo assim, no sorgo sacarino, é o material mais indicado para a produção de açúcares fermentáveis a partir da hidrólise ácida.

Na hidrólise enzimática, os pré-tratados apresentaram rendimentos superiores a 90 % nas três biomassas submetidas ao pré-tratamento com peróxido de hidrogênio 10 % e para o colmo no pré-tratamento com hidróxido de sódio 10 % e rendimentos acima de 80 % para as três biomassas no pré-tratamento com hidróxido de potássio 10 %.

Os pré-tratados com peróxido de hidrogênio 10 %, hidróxido de sódio 10 % e hidróxido de potássio 10 % apresentaram as menores recuperações de massa e também as maiores conversões de celulose em glicose na hidrólise enzimática, com exceção dos rendimentos dos pré-tratados do bagaço e da folha com hidróxido de sódio 10 %, e são os mais indicados no uso como substrato para hidrólise enzimática. No pré-tratado com ácido diluído, a alta porcentagem de lignina presente fez as conversões de celulose serem mais baixas e no pré-tratado com peróxido de hidrogênio 6 %, a maior porcentagem de hemicelulose (xilana) nos pré-tratados foi a causa das baixas conversões de celulose.

O sorgo sacarino, de acordo com o presente estudo, apresenta bom potencial para a produção de macromoléculas como a celulose (glucana) e a hemicelulose (xilana), e para a produção de açúcares fermentáveis como a xilose, arabinose e glicose.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERSHEIM, P. et al. **Plant Cell Walls**. 1 ed. Garland Science, Taylor and Francis Group, LLC, New York, USA, 2011.

ALMODARES, A.; HADI, M. R. Production of bioethanol from sweet sorghum: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, p. 772 - 780, 2009.

ALONSO, D. M. et al. Increasing the revenue from lignocellulosic biomass: Maximizing feedstock utilization. **Science Advances**, v.3, n. 5, p.1-7, 2017.

ALVES, R, C. **Influência da granulometria do bagaço de cana-de-açúcar na solubilização de hemicelulose em meio ácido e alcalino e produção de açúcares fermentáveis**. 2018. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 2018.

ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJO, M.; NEGRO, M. J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review. **Bioresource Technology**, v.101, p.4851-4861, 2010.

ANANDAN, S. et al. Feeding value of sweet sorghum bagasse and leaf residues after juice extraction for bio-ethanol production fed to sheep as complete rations in diverse physical forms. **Animal Feed Science and Technology**, v. 175, p. 131–136, 2012.

APPIAH-NKANSAH, N. B. et al. A review of sweet sorghum as a viable renewable bioenergy crop and its techno-economic analysis. **Renewable Energy**, v. 143, p. 1121–1132, 2019.

ARANTES, V.; SADDLER, J.N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. **Biotechnology for Biofuels**, v. 3, n. 4, p. 1-11, 2010.

ARAÚJO, C. K. C. **Avaliação da influência de surfactantes químico e biológico na hidrólise enzimática de casca de coco verde após pré-tratamento ácido/alcalino e com peróxido de hidrogênio alcalino**. 2016. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2016.

BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conversion and Management**, v.52, n. 2, p. 858-875, 2011.

BANERJEE, G. et al. Scale-up and integration of alkaline hydrogen peroxide pretreatment, enzymatic hydrolysis, and ethanolic fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, n. 4, p. 922–931, 2011.

BARCELOS, C. A. et al. Sweet sorghum as a whole-crop feedstock for ethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v. 94, p. 46–56, 2016.

BENJAMIN, Y.; CHENG, H.; GÖRGENS, J. F. Evaluation of bagasse from different varieties of sugarcane by dilute acid pretreatment and enzymatic hydrolysis. **Industrial Crops and Products**, v. 51, p. 7–18, 2013.

BEZERRA, T. L.; RAGAUSKAS, A. J. A review of sugarcane bagasse for second-generation bioethanol and biopower production. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 10, p. 634–647, 2016.

BIANCHI, M. L. **Polpação de palha de milho utilizando-se diferentes processos organosolv**. 1995. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1995.

BLUMMEL, M. et al. Evaluation of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) used for bioethanol production in the context of optimizing whole plant utilization. **Animal Nutrition Feed Technology**, v. 9, p. 1-10, 2009.

BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M. Lignin biosynthesis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 4, p. 519–546, 2003.

BOUDET, A. M.; LAPIERRE, C.; GRIMA-PETTENATI, J. Biochemistry and molecular biology of lignification. **New Phytologist**, v. 129, n.2, p. 203–236, 1995.

BRIENZO, M.; SIQUEIRA, A. F.; MILAGRES, A. M. F. Search for optimum conditions of sugarcane bagasse hemicellulose extraction. **Biochemical Engineering Journal**, v. 46. p. 199-204, 2009.

BRIENZO, M. **Extração da hemicelulose do bagaço de cana-de-açúcar para produção de xilo-oligossacarídeo**. 2010. 137 p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia, Universidade de São Paulo, Lorena, 2010.

BRIENZO, M. et al. Relationship between physicochemical properties and enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse varieties for bioethanol production. **New biotechnology**. v. 32, p. 253–262, 2015.

BRIENZO, M. et al. Influence of pretreatment severity on structural changes, lignin content and enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse samples. *Renewable Energy*. v. 104, p. 271–280, 2017.

BROWN, L. M.; HAWKINS, G. M.; DORAN-PETERSON, J. Ethanol production from renewable lignocellulosic biomass. *Biofuels and bioenergy*, p. 89-104, 2017.

BUCKERIDGE, M., **Etanol: Pesquisa & Desenvolvimento**. 1a Ed. São Paulo: Blücher. 135 p. ISBN 986 -84-213-02314-3, 2010.

CAMARGO, D. et al. Dilute acid hydrolysis of sweet sorghum bagasse and fermentability of the hemicellulosic hydrolysate. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 36, p. 143–156, 2019.

CANILHA, L.; SANTOS, V. T. O.; ROCHA, G.J.M. A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, New York, v. 38, p. 1467–1475, 2011.

CAO, W. et al. Pretreatment of sweet sorghum bagasse by alkaline hydrogen peroxide for enhancing ethanol production. *Korean Journal of Chemical Engineering*. v. 33, n. 3, p. 873–879, 2016.

CAO, W. et al. Methane production enhancement from products of alkaline hydrogen peroxide pretreated sweet sorghum bagasse. *RSC Advances*. v. 7, n. 10, p. 5701–5707, 2017.

CARDOSO, W. S. et al. Use of sorghum straw (*Sorghum bicolor*) for second generation ethanol production: pretreatment and enzymatic hydrolysis. *Química Nova*, v. 36, n. 5, p. 623-627, 2013.

CHANDRA, R. P. et al. Substrate pretreatment: the key to effective enzymatic hydrolysis of lignocelullosics? *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, v.108, p. 67–93. 2007.

CHEN, C. et al. Ethanol production from sorghum by a microwave-assisted dilute ammonia pretreatment. *Bioresource Technology*, v. 110, p. 190–197, 2012.

CHEN, H. et al. A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. *Fuel Processing Technology*, v.160, p. 196-206, 2017.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar. v. 6, n. 4, p. 1-58. 2020. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 28 junho 2020.

DAVISON, B. H. et al. Plant cell walls: basics of structure, chemistry, accessibility and the influence on conversion. **Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical Conversion to Fuels and Chemicals**, p. 23-38, 2013.

DELMER D. P.; AMOR, Y. Cellulose Biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 7, p. 987-1000, 1995.

DESHAVATH, N. N. et al. Dilute acid pretreatment of sorghum biomass to maximize the hemicellulose hydrolysis with minimized levels of fermentative inhibitors for bioethanol production. **3 Biotech**, v. 7, p. 1–12, 2017.

DE FIGUEIREDO, F. C. et al. Chemical input reduction in the arabinoxylan and lignocellulose alkaline extraction and xylooligosaccharides production. **Bioresource technology**, v. 228, p. 164-170, 2017.

DOS SANTOS ABREU, H.; DO NASCIMENTO, A. M.; MARIA, M. A. Lignin structure and wood properties. **Wood and Fiber Science**, v. 31, n. 4, p. 426-433, 1999.

DUFF, S. J. B.; MURRAY, W. D. Bioconversion of forest products industry waste cellulosics to fuel ethanol: a review. **Bioresource Technology**, v. 55, p.1-33, 1996.

EBRINGEROVÁ, A.; HROMADKOVA, Z.; HEINZE, T. Hemicellulose. **Advanced Polymer Science**, v. 186, p. 1–67, 2005.

EBRINGEROVÁ, A.; HEINZE, T. Xylan and xylan derivatives – biopolymers with valuable properties, 1. Naturally occurring xylans structures, isolation procedures and properties. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 21, p. 542–556, 2000.

FARIA, K. C. P.; GURGEL, R. F.; HOLANDA, J. N. F. Recycling of sugarcane bagasse ash waste in the production of clay bricks. **Journal of Environmental Management**, v. 101, p. 7-12, 2012.

FASANELLA, C. C. **Ação das enzimas ligninolíticas produzidas *Aspergillus niger* e *Penicillium sp.* em bagaço de cana-de-açúcar tratado quimicamente**. 79f. 2008. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de

São Paulo. Piracicaba, 2008.

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

FERNANDES, E. S. et al. Sugar and ethanol production process from sugarcane. In: Rachel Murphy. (Org.). *Sugarcane: Production Systems, Uses and Economic Importance*. 1ed. Nova York: **Nova Science Publishers**, v. 1, p. 193-216, 2017.

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

FESTUCCI-BUSELLI R.A.; OTONI W.C.; JOSHI C.P. Structure, organization, and functions of cellulose synthase complexes in higher plants. **Braz. J. Plant Physiol.**, v. 19, n. 1, p.1–13, 2007.

FIGUEIREDO, F. C. **"Efeito prebiótico de xilo-oligossacarídeos produzidos a partir da hemicelulose de bagaço de cana-de-açúcar utilizando extração alcalina e hidrólise de xilanases fúngicas"**. 2016. 65f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 2016.

FREITA, L. A. **Produção de etanol de segunda geração utilizando bagaço de sorgo sacarino, forrageiro e biomassa**. 2017. 179 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; Jaboticabal, 2017.

FREITAS, C.; CARMONA, E.; BRIENZO, M. Xylooligosaccharides production process from lignocellulosic biomass and bioactive effects. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v.18, p. 1 – 8, 2019.

GANESH KUMAR, C. et al. Isolation and Characterization of Cellulose from Sweet Sorghum Bagasse. **Sugar Tech**, v. 17, n. 4, p. 395–403, 2014.

GARCIA, D. R. **Determinação de dados cinéticos do pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar com peróxido de hidrogênio alcalino e da hidrólise enzimática posterior**. 2009. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2009.

GÍRIO, F. M. et al. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4775–4800, 2010.

GOSHADROU, A.; KARIMI, K.; TAHERZADEH, M. J. Bioethanol production from sweet sorghum bagasse by *Mucor hiemalis*. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 1, p. 1219–1225, 2011.

GOULD, J. M. Studies on the mechanism of alkaline peroxide delignification of agricultural residues. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 27, n. 3, p. 225-231, 1985.

GOUVEIA, E. R. et al. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1500–1503, 2009.

GNANSOUNOU, E.; DAURIAT, A.; WYMAN, C. E. Refining sweet sorghum to ethanol and sugar: economic trade-offs in the context of North China. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 9, p. 985–1002, 2005.

GRABBER, J. H. et al. Genetic and molecular basis of grass cell-wall degradability: lignin–cell wall matrix interactions. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 327, n. 5, p. 455-465, 2004.

GUERRIERO, G. et al. Lignocellulosic biomass: Biosynthesis, degradation, and industrial utilization. **Engineering in Life Sciences**, v. 16, n. 1, p. 1-16, 2016.

HAGHIGHI MOOD, S. et al. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 77–93, 2013.

HALL, M. et al. Cellulose crystallinity - a key predictor of the enzymatic hydrolysis rate. **FEBS Journal**, v. 277, n. 6, p. 1571–1582, 2010.

HALLAC, B. B.; RAGAUSKAS, A. J. Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 5, n. 2, p. 215–225, 2011.

HAO, M. et al. Sustainable Development of Sweet Sorghum-Based Fuel Ethanol from the Perspective of Water Resources in China. **Sustainability**, v. 10, p. 1-15, 2018.

HEINZE, T. Cellulose: Structure and Properties. In: Cellulose Chemistry and Properties: Fibers, Nanocelluloses and Advanced Materials. **Advanced Polymer Science**, v. 271, p.1–52, 2015.

HEREDIA-OLEA, E.; PÉREZ-CARRILLO, E.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Effects of different acid hydrolyses on the conversion of sweet sorghum bagasse into C5 and C6 sugars and yeast inhibitors using response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 119, p. 216–223, 2012.

HERNÁNDEZ-BELTRÁN, J. U. et al. Insight into pretreatment methods of lignocellulosic biomass to increase biogas yield: current state, challenges, and opportunities. **Applied Sciences**, v. 9, n. 18, p. 3721, 2019.

HERRERA, A. et al. Production of xylose from sorghum straw using hydrochloric acid. **Journal of Cereal Science**, v.37, p. 267–274, 2003.

HERRERA, A. et al. Effect of the hydrochloric acid concentration on the hydrolysis of sorghum straw at atmospheric pressure. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 103–109, 2004.

HORN, S. et al. Novel enzymes for the degradation of cellulose. **Biotechnology for Biofuels**, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2012.

HÜTTERMANN, A.; MAI, C.; KHARAZIPOUR, A. Modification of lignin for the production of new compounded materials. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 55, n. 4, p. 387–384, 2001.

KATARE, V. D.; MADURWAR, M. V. Experimental characterization of sugarcane biomass ash – A review. **Construction and Building Materials**, v. 152, p. 1–15, 2017.

KIM, M.; DAY D. F. Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. **Journal of Industrial Microbiology Biotechnology**. v. 38, p. 803–807, 2011.

KIM, J. S.; LEE, Y. Y.; KIM, T. H. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 42–48, 2016.

KLEMM, D. et al. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 22, p. 3358–3393, 2005.

KLOCK, U. et al. **Química da Madeira**. Universidade Federal do Paraná, 3ª edição revisada, 26 p., Curitiba, 2005.

LEE, H. V.; HAMID, S. B. A.; ZAIN, S. K. Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: structure and chemical process. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-20, 2014.

LI, H. et al. Characteristics of hemicelluloses obtained from sweet sorghum based on successive extractions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 46, p. 1-9, 2015.

LI, M.; PU, Y.; RAGAUSKAS, A. J. Current Understanding of the Correlation of Lignin Structure with Biomass Recalcitrance. **Frontiers in Chemistry**, v. 4, p. 1-8, 2016.

LIU, X. et al. Kinetic model analysis of dilute sulfuric acid-catalyzed hemicellulose hydrolysis in sweet sorghum bagasse for xylose production. **Industrial Crops and Products**, v. 38, p. 81–86, 2012.

LIU, X. et al. Improving the bioenergy production from wheat straw with alkaline pretreatment. **Biosystems Engineering**, v.140, p. 59-66, 2015.

LIMAYEM, A.; RICKE, S. C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 38, n. 4, p. 449–467, 2012.

LLORENTE, M. F.; GARCÍA, J. C. Comparing methods for predicting the sintering of biomass ash in combustion. **Fuel**, v. 84, n.14-15, p. 1893-1900, 2005.

MACHADO, G. et al. Literature review on furfural production from lignocellulosic biomass. **Natural Resources**, v. 7, n. 3, p. 115-129, 2016.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Ecofisiologia da Produção de Sorgo. **Embrapa: Comunicado Técnico**. Sete Lagoas, MG, 2003.

MATHUR, S. et al. Sweet sorghum as biofuel feedstock: recent advances and available resources. **Biotechnology for Biofuels**, v. 10, n. 156, p. 1-19, 2017.

MAY, A. et al. Sistema Embrapa de produção agroindustrial de sorgo sacarino para bioetanol sistema BRS1G–tecnologia qualidade Embrapa. **Sistema**, v. 1, n. 3, p. 9, 2012.

MELATI, R., B. **Influência anatômica da cana-de-açúcar em processos de extração de hemiceluloses e uso como substrato em atividade enzimática**. 2018. 71f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 2018.

MELATI, R. B. et al. Key factors affecting the recalcitrance and conversion process of biomass. **BioEnergy Research**, v. 12, n. 1, p. 1-20, 2019.

MENG, X.; RAGAUSKAS, A. J. Recent advances in understanding the role of cellulose accessibility in enzymatic hydrolysis of lignocellulosic substrates. **Current opinion in biotechnology**, v. 27. p. 150-158, 2014.

MOHAMAD, N. L.; MUSTAPA KAMAL, S. M.; MOKHTAR, M. N. Xylitol Biological Production: A Review of Recent Studies. **Food Reviews International**, v. 31, n. 1, p. 74–89, 2014.

MORAIS, A. P. S.; BROETTO, F. Pré-hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar e sua caracterização físico-química. **Energia na Agricultura**, v. 27, n. 4, p. 1-12, 2012.

MOYSÉS, D. et al. Xylose Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*: Challenges and Prospects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, p. 1–18, 2016.

NAIDU, D. S.; HLANGOTHI, S. P.; JOHN, M. J. Bio-based products from xylan: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 179, p. 28-41, 2018.

NISHIMURA, H. et al. Direct evidence for  $\alpha$  ether linkage between lignin and carbohydrates in wood cell walls. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2018.

NOZARI, B.; MIRMOHAMADSADEGHI, S.; KARIMI, K. Bioenergy production from sweet sorghum stalks via a biorefinery perspective. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 7, p. 3425-3438, 2018.

OLANDERS, B.; STEENARI, B. M. Characterization of ashes from wood and straw. **Biomass and Bioenergy**, v. 8, n. 2, p. 105–115, 1995.

OLIVEIRA, R. A.; ROSSELL, C. E. V.; MACIEL FILHO, R. Using Hemicellulosic Liquor from Sugarcane Bagasse to Produce Second Generation Lactic Acid. **World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Bioengineering and Life Sciences**, v. 4, 2017.

OSTOVAREH, S.; KARIMI, K.; ZAMANI, A. Efficient conversion of sweet sorghum stalks to biogas and ethanol using organosolv pretreatment. **Industrial Crops and Products**, v. 66, p. 170-177, 2015.

PAIXÃO, S. M. et al. Sugarcane bagasse delignification with potassium hydroxide for enhanced enzymatic hydrolysis. **RSC Advances**, v. 6, n. 2, p. 1042–1052, 2016.

PARRELLA, R. D. C. et al. Desempenho de cultivares de sorgo sacarino em diferentes ambientes visando a produção de etanol. In: **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28.; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA DO CARTUCHO, 4., 2010, Goiânia. Potencialidades, desafios e sustentabilidade: resumos expandidos... Sete Lagoas: ABMS, 2010.

PARTIDA-SEDAS, G. et al. Optimization of hydrolysis process to obtain fermentable sugars from sweet sorghum bagasse using a box-behnken design. **Sugar Tech**, v. 19, n. 3, p. 317–325, 2016.

PENG, F. et al. Comparative study of hemicelluloses obtained by graded ethanol precipitation from sugarcane bagasse. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 14, p. 6305-6317, 2009.

PENGILLY, C. et al. Enzymatic hydrolysis of steam-pretreated sweet sorghum bagasse by combinations of cellulase and endo-xylanase. **Fuel**, v. 154, p. 352–360, 2015.

PIMENTEL, L. D. et al. Chemical and bioenergetic characterization of sorghum agronomic groups. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 47, n. 4, p. 424-431, 2017.

PIN, E. A. **Silagem do bagaço de sorgo sacarino**. 2015. 85 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2015.

POONSRISAWAT, A. et al. Conversion of sweet sorghum straw to sugars by dilute acid saccharification. **Sugar Tech**, v. 15, n. 3, p. 322–327, 2013.

PRASAD, S. et al. Ethanol Production from Sweet Sorghum Syrup for Utilization as Automotive Fuel in India. **Energy & Fuels**, v. 21, n. 4, p. 2415–2420, 2007.

PU, Y. et al. The new forestry biofuels sector. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 2, n. 1, p. 58-73, 2008.

RABELO, S. C. **Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de**

**hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar.** 2007. 150 f. Dissertação (Mestrado), - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2007.

RAMOS, L.P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 863-871, 2003.

RASMUSSEN, H.; SORENSEN, H. R.; MEYER, A. S. Formation of degradation compounds from lignocellulosic biomass in the biorefinery: sugar reaction mechanisms. **Carbohydrate Research**, v. 385, p. 45-57, 2014.

RAY, R.C. et al. Sweet sorghum for bioethanol production: scope, technology, and economics. **Bioethanol Production from Food Crops**, p. 81-100, 2019.

REDDY, N.; YANG, Y. Structure and properties of natural cellulose fibers obtained from sorghum leaves and stems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 14, p. 5569-5574, 2007.

REIS, A. L. S. et al. Second-generation ethanol from sugarcane and sweet sorghum bagasses using the yeast *Dekkera bruxellensis*. **Industrial Crops and Products**, v. 92, p. 255-262, 2016.

RIBAS, P. M. **Sorgo: introdução e importância econômica.** Sete Lagoas: *Embrapa Milho e Sorgo*. Documentos, v. 26, p. 1 – 14, 2003.

RODRIGUES, C. P.; CAMARGO, J. A. **Bagaço de cana-de-açúcar como potencial para cogeração de energia elétrica e etanol celulósico.** São Joaquim da Barra: Iara Coimbra. 25 p. 2008.

RUTTO, L. et al. Juice, Ethanol, and Grain Yield Potential of Five Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) Cultivars. **Journal of Sustainable Bioenergy Systems**, v. 3, n. 2, p. 113-118, 2013.

SANT'ANNA, C.; DE SOUZA, W.; BRIENZO, M. The influence of the heterogeneity, physicochemical and structural properties on the recalcitrance and conversion of sugarcane bagasse. **Sugarcane: production, consumption and agricultural management systems**, p. 1-34, 2014.

SANTOS, F. A. et al. Potencial da Palha de Cana-de-Açúcar para Produção de Etanol. **Química Nova**, v. 35, p. 1004-1010, 2012.

SANTOS, V. T. O. **Ação do pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído em híbridos de cana-de-açúcar e seus efeitos na conversão enzimática da glucana.** 2015. 111 f. Tese (Doutorado em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo. Lorena, 2015.

SCHMATZ, A. A.; TYHODA, L.; BRIENZO, M. Sugarcane biomass conversion influenced by lignin. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 14, n. 2, p. 469-480, 2020.

SENNA, A. M.; MENEZES, A. J.; BOTARO, V. R. Estudo da densidade de ligações cruzadas em géis superabsorventes obtidos do acetato de celulose. **Polímeros [Online]**, São Carlos, v. 23, n. 1, p. 59-64, 2013.

SETTE, M.; WECHSELBERGER, R.; CRESTINI, C. Elucidation of Lignin Structure by Quantitative 2D NMR. **Chemistry - A European Journal**, v. 17, n. 34, p. 9529–9535, 2011.

SHARMA, R. et al. Potential of Potassium Hydroxide Pretreatment of Switchgrass for Fermentable Sugar Production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 169, n. 3, p. 761–772, 2012.

SHE, D. et al. Physicochemical characterization of extracted lignin from sweet sorghum stem. **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 1, p. 21-28, 2010.

SHIMIZU, F. L. et al. Acid, alkali and peroxide pretreatments increase the cellulose accessibility and glucose yield of banana pseudostem. **Industrial Crops and Products**, v. 115, p. 62–68, 2018.

SHIMIZU, F. L. et al. Minimum Lignin and Xylan Removal to Improve Cellulose Accessibility. **BioEnergy Research**, p. 1-11, 2020.

SILVA, D. S. G. **Isolamento de xilanas do bagaço de cana-de-açúcar integrado à hidrólise enzimática da celulose residual.** 2016. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo. Lorena, 2016.

SILVERSTEIN, R. A. et al. A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 16, p. 3000–3011, 2007.

SIPOS, B. et al. Sweet Sorghum as Feedstock for Ethanol Production: Enzymatic Hydrolysis of Steam-Pretreated Bagasse. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 153, p. 151-162,

2009.

SLUITER, A. et al. Determination of extractives in biomass. **Laboratory Analytical Procedure (LAP)**, v. 1617, p. 1-9, 2005.

SOUZA, C. C. et al. Produtividade do Sorgo granífero cv. sacarino e qualidade de produtos formulados isoladamente ou combinados ao caldo de cana-de-açúcar. **Food Science and Technology**, v. 25, n. 3, p. 512-517, 2005.

SUN, S.L. et al. Successive alkali extraction and structural characterization of hemicelluloses from sweet sorghum stem. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 2224–2231, 2013.

SUN, S. L. et al. Assessment of integrated process based on hydrothermal and alkaline treatments for enzymatic saccharification of sweet sorghum stems. **Bioresource Technology**, v. 175, p. 473-479, 2015.

TAN, Z.; LAGERKVIST, A. Phosphorus recovery from the biomass ash: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 8, p. 3588–3602, 2011.

TANG, J. et al. Effects of dilute acid hydrolysis on composition and structure of cellulose in *Eulaliopsis binata*. **BioResources**, v. 6, n. 2, p. 1069–1078, 2011.

THAMMASOUK, K.; TANDJO, D.; PENNER, M. H. Influence of extractives on the analysis of herbaceous biomass. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 437-443, 1997.

THANAPIMMETHA, A. et al. Chemical and microbial hydrolysis of sweet sorghum bagasse for ethanol production. **World Renewable Energy Congress: Linköping; Sweden**, p. 389–396, 2011.

TEIXEIRA, C.G.; JARDINE, J. G.; BEISMAN, D.A. Utilização do sorgo sacarino como matéria-prima complementar à cana-de-açúcar para obtenção de etanol em microdestilaria. **Ciência e Tecnologia de Alimento**, v. 17, n.3, p. 221-229, 1997.

TÉLLEZ-LUIS, S. J.; RAMIREZ, J. A.; VÁZQUEZ, M. Mathematical modelling of hemicellulosic sugar production from sorghum straw. **Journal of Food Engineering**, v. 52, p. 285–291, 2002.

UMAKANTH, A.V.; KUMAR, A. A. Sweet sorghum: a novel opportunity for biofuel production. **Indian Farming**, v. 65, p. 37 – 40, 2016.

UMAKANTH, A. V. et al. Sweet Sorghum for Biofuel Industry. **In: Breeding Sorghum for Diverse End Uses**, p. 255–270, 2019.

VANCOV, T.; MCINTOSH, S. Mild acid pretreatment and enzyme saccharification of sorghum bicolor straw. **Applied Energy**, v. 92, p. 421–428, 2012.

VANHOLME, R. et al. Lignin Biosynthesis and Structure. **Plant Physiology**, v. 153, n. 3, p. 895–905, 2010.

VANHOLME, B. et al. Towards a carbon-negative sustainable bio-based economy. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1-17, 2013.

VARGA, E.; SCENGYEL, Z.; RECAEY, K. Chemical pretreatments of corn stover for enhancing enzymatic digestibility. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 98–100, p. 73–87, 2002.

VÁSQUEZ, M.P. et al. Enzymatic hydrolysis optimization to ethanol production by Simultaneous Saccharification and Fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 137-140, p. 141-153, 2007.

VELMURUGAN, B. et al. Sweet sorghum: a potential resource for bioenergy production. **In: Refining Biomass Residues for Sustainable Energy and Bioproducts. Academic Press**, p. 215-242, 2020.

WANG, L.; LUO, Z.; SHAHBAZI, A. Optimization of simultaneous saccharification and fermentation for the production of ethanol from sweet sorghum (*Sorghum bicolor*) bagasse using response surface methodology. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 280–291, 2013.

WEI, L. et al. Optimization of alkaline extraction of hemicellulose from sweet sorghum bagasse and its direct application for the production of acidic xylooligosaccharides by *Bacillus subtilis* strain MR44. **PloS one**, v. 13, n. 4, p. 1-15, 2018.

WHITFIELD, M.B.; CHINN, M.S.; VEAL, M.W. Processing of materials derived from sweet sorghum for biobased products. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 362-375, 2012.

WU, L. et al. Low temperature alkali pretreatment for improving enzymatic digestibility of sweet sorghum bagasse for ethanol production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 7, p. 4793–4799, 2011.

WYMAN, C. E. et al. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. **Bioresource Technology**, Essex, v. 96, p. 1959-1966, 2005.

XU, J. D.; LI, M. F.; SUN, R. C. Successive fractionations of hemicelluloses and lignin from sorghum stem by sodium hydroxide aqueous solutions with increased concentrations. **BioResources**, v. 13, n. 2, p. 2356-2373, 2018.

YANG, B. et al. Enzymatic hydrolysis of cellulosic biomass. **Biofuels**, v. 2, n. 4, p. 421–449, 2011.

YU, J. et al. Biorefinery of sweet sorghum stem. **Biotechnology Advances**, v. 30, p. 811 – 816, 2012.

YUAN, Z. **Sistema para pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar**. 2016. 61 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Tecnológica) – Instituto de Química, Universidade de Brasília. Brasília, 2016.

ZHANG, J. et al. The effects of four different pretreatments on enzymatic hydrolysis of sweet sorghum bagasse. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 6, p. 4585–4589, 2011.

ZHANG, B. Z. et al. Pretreatment of sweet sorghum stalk using dilute acid. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects**, v. 36, n. 16, p. 1835-1842, 2014.

ZHAO, X.; ZHANG, L.; LIU, D. Biomass recalcitrance. Part I: the chemical compositions and physical structures affecting the enzymatic hydrolysis of lignocellulose. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 6, n. 4, p. 465-482, 2012.