Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Tecnologias e Geociências
Departamento de Energia Nuclear
Programa de Pós- Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares

AVALIAÇÃO DA BIOMASSA DE SORGO SACARINO E PALMA FORRAGEIRA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL EM PERNAMBUCO

TACIANA DO NASCIMENTO SANTOS

RECIFE
FEVEREIRO - 2012

TACIANA DO NASCIMENTO SANTOS

AVALIAÇÃO DA BIOMASSA DE SORGO SACARINO E PALMA FORRAGEIRA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL EM PERNAMBUCO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares, na área de Fontes Renováveis de Energia.

Orientador: Professor Rômulo Simões Cezar Menezes, Dr. (DEN/UFPE)
Co-orientador: Professor Cesar Augusto Moraes de Abreu, Dr. (DEQ/UFPE)

RECIFE - PE

FEVEREIRO - 2012

.

Catalogação na fonte
Bibliotecário: Carlos Moura, CRB4-1502 (BDEN/UFPE)

S237a **Santos, Taciana do Nascimento.**

Avaliação da biomassa de sorgo sacarino e palma forrageira para produção de etanol em Pernambuco. / Taciana do Nascimento Santos. - Recife: O Autor, 2012.

81 f. : il., gráf., tab.

Orientador: Prof. Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes.

Co-Orientador: Prof. Dr. Cesar Augusto Moraes de Abreu.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2012.

Inclui Referências Bibliográficas.

1. Composição química. 2. Lignocelulósicos. 3. Bioenergia. I. Menezes, Rômulo Simões Cezar. (orient.). II. Abreu, Cesar Augusto Moraes de. (orient.). III. Título.

662.88 CDD (21. ed.) UFPE/BDEN/2012-006

AVALIAÇÃO DA BIOMASSA DE SORGO SACARINO E PALMA FORRAGEIRA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL EM PERNAMBUCO

Taciana do Nascimento Santos

APROVADO EM: 29.02.2012

ORIENTADOR: Prof. Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. César Augusto Morais Abreu

COMISSÃO EXAMINADORA:

_____
Prof. Dr. Nelson Medeiros de Lima Filho- DEQ/UFPE

_____
Prof. Dr. José Nildo Tabosa- IPA

_____
Prof. Dr. Diogo Ardaillon Simões- Dept.Bioquímica/UFPE

Visto e permitida a impressão

_____
Coordenador do PROTEN/DEN/UFPE

Dedico este trabalho aos meus pais, pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais e demais familiares.

Aos amigos que fazem parte da minha vida desde a infância, colégio ou faculdade e também aos que encontrei no grupo de Energia da Biomassa (GEB), durante o mestrado, e no período de estágio na Escola de Engenharia de Lorena (EEL-USP).

Também sou grata aos professores que contribuíram para essa pesquisa, em especial ao meu orientador.

Aos órgãos financiadores: CNPq pela concessão de bolsa e FACEPE pelo projeto de auxílio à pesquisa.

“There's no sense in being precise when you don't even know what you're talking about”

John Neumann

RESUMO

A possibilidade de utilizar a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*; *Nopalea cochenilifera*) e o sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L. Moench) como biomassa para a produção de combustíveis no Estado de Pernambuco é um tema que mereçe atenção, devido a adequada adaptação dessas culturas às condições climáticas da região e à atual necessidade de ampliar a produção de energia a partir de fontes renováveis. Este trabalho teve por objetivo investigar a composição química da biomassa de sorgo sacarino e da palma forrageira, a fim de fornecer subsídios para avaliações futuras do processamento dessas biomassas. No decorrer do ano de 2011, foram realizadas análises de composição química do bagaço de sorgo, na Universidade Federal de Pernambuco, bem como a avaliação do comportamento dessa biomassa frente a uma etapa de pré-tratamento ácido, cujo objetivo era disponibilizar carboidratos para uso na produção de etanol. Os resultados obtidos ratificam as semelhanças entre a composição química do bagaço de sorgo e da cana-de-açúcar e mostraram a capacidade de liberação de xilose através da etapa de pré-tratamento estudada. No entanto, faz-se necessário maiores investimentos no estudo de rotas de processamento do bagaço de sorgo bem como na otimização dos parâmetros de processo, a fim de obter melhores rendimentos. As análises de composição química da palma forrageira foram realizadas na Escola de Engenharia de Lorena (EEL-USP), tendo sido encontrados altos teores de substâncias solúveis em água, especialmente para a palma forrageira do tipo gigante, além de grande quantidade de extrativos. Foram identificados como açúcares constituintes da biomassa de palma forrageira a glicose, arabinose, galactose e xilose, enquanto na fração solúvel em água dessa biomassa, foram encontrados os açúcares glicose, arabinose, galactose e manose. Ainda é preciso avançar bastante na pesquisa para a identificação precisa dos constituintes da palma forrageira, no entanto, ficou clara a dificuldade de isolar e quantificar essas substâncias, sobretudo devido à presença de mucilagens, o quanto sua composição é diferente do sorgo, e o enorme desafio que será estabelecer a melhor tecnologia de aproveitamento energético da palma forrageira.

Palavras-chave: composição química, lignocelulósicos, bioenergia

ABSTRACT

The possibility of using forage cactus (*Opuntia ficus-indica*; *Nopalea cochenilifera*) and sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) as biomass sources to produce biofuels in the state of Pernambuco (Northeastern Brazil) is a topic that deserves attention, because of the adequate adaptation of such crops to the local climatic conditions and the current need to increase energy production from renewable sources. This work aimed to investigate the chemical composition of sorghum biomass and forage cactus, in order to provide information for future evaluation of the processing of such biomass sources. The analyses of the chemical composition of sorghum bagasse was carried out in the Federal University of Pernambuco during the year of 2011, as well as the evaluation of behavior of such biomass source after a step of acid pre-treatment with the aim of providing carbohydrates for use in ethanol production. The results obtained ratified the similarities between the chemical composition of bagasse from sorghum and from sugarcane. Results also showed the release of xilose due to the acid pre-treatment step studied. However, it is necessary to increase the investment in the study of sorghum bagasse process route, as well as the optimization of the process parameters, in order to get better yields. The chemical composition analyses of forage cactus was carried out in Engineering School of Lorena (University of São Paulo State, Southeastern Brazil). These analyses showed high levels of water soluble substances, specially for the giant forage cactus, and a large amount of extractives. The sugars identified as constituents of cactus forage biomass were glucose, arabinose, galactose and xylose, while glucose, arabinose, galactose and mannose were identified as the constituents of the soluble fraction. Future studies should focus on research to allow the precise determination of cactus forage constituents. It is clear, however, the difficulty of isolating and quantifying these substances, mainly because of the presence of mucilage, how their composition is different from sorghum, and the enormous challenge that will be to determine the best technology for adopting cactus as a feed stock for bioenergy production.

Keywords: chemical composition, lignocellulosic, bioenergy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Oferta Interna de Energia Elétrica no Brasil em 2009 (A); Consumo Final de Energia no Brasil por Fonte, em 2009 (B) (Fonte: EPE, 2010). 4
Figura 2- Estimativa de Consumo Final de Energia para 2017 (Fonte: Ministério de Minas e Energia, 2009). 5
Figura 3- Fórmula estrutural da celulose. 11
Figura 4- Estrutura dos monossacarídeos que formam as polioses (Fonte: FENGEL e WEGENER, 1984). 12
Figura 5- Estrutura das moléculas de celulose e hemicelulose (Fonte: PURVES et al.). 13
Figura 6- Alcoóis cinamílicos precursores da lignina (Fonte: FENGEL e WEGENER, 1984). 13
Figura 7- Fórmula estrutural da amilose. 14
Figura 8- Estrutura da amilopectina. 14
Figura 9- Estrutura das substâncias pécticas. 15
Figura 10- Esquema com as principais etapas envolvidas na técnica de cromatografia. 20
Figura 11- Rotas tecnológicas para produção de bioenergia (Fonte: BNDES e CGEE. 2008). 22
Figura 12- Fracionamento de bagaço de sorgo sacarino, variedade IPA 467, em peneiras de diferentes granulometria 47
Figura 13- Bagaço de sorgo sacarino utilizado na etapa de pré-tratamento com ácido diluído, fracionado de acordo com o tamanho de suas partículas. 48
Figura 14- Diagrama de Pareto para avaliação do efeito do tempo e da carga de sólidos sob o percentual de liberação de xilose obtido através do pelo pré-tratamento do bagaço de sorgo sacarino. 52
Figura 15- Dispersão de partículas de bagaço de sorgo para frações de: (A) Diâmetro maior; (B) Diâmetro menor. 53
Figura 16- Dispersão de partículas de bagaço de sorgo para frações de diâmetro intermediário. 53
Figura 17- Cromatograma da primeira leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de solução padrão contendo seis açúcares em concentrações conhecidas, $C_1 \approx 50$ ppm. 56
Figura 18- Cromatograma da segunda leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de solução padrão contendo seis açúcares em concentrações conhecidas, $C_2 \approx 25$ ppm. 57
Figura 19- Cromatograma da 13ª leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de solução padrão contendo seis açúcares em concentrações conhecidas, $C_1 \approx 50$ ppm. 58
Figura 20- da 5ª leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de extrato aquoso de palma miúda, obtido em sistema Soxhlet. 59
Figura 21- Cromatograma da 6ª leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de extrato aquoso de palma gigante, obtido em sistema Soxhlet. 60
Figura 22- Cromatograma da 3ª leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de extrato aquoso de palma miúda, obtido em extração no béquer, a temperatura ambiente. 61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição média do bagaço de sorgo sacarino, encontrada por diversos autores 17
Tabela 2- Composição da biomassa de palma forrageira, encontrada por diversos autores 18
Tabela 3- Processos de pré-tratamento de biomassa 25
Tabela 4- Descrição de cada amostra (tratamento) utilizada no experimento de extração de bagaço de sorgo sacarino 31
Tabela 5- Parâmetros e níveis avaliados na etapa de pré-tratamento do bagaço de sorgo sacarino, variedade IPA 467 34
Tabela 6- Planejamento Fatorial 2^3 para a etapa de pré-tratamento de bagaço de sorgo sacarino, variedade IPA 467 35
Tabela 7- Amostras analisadas do planejamento fatorial para o pré-tratamento de bagaço de sorgo, da variedade IPA 467, considerando o percentual de conversão de xilose como parâmetro indicativo de eficiência do processo 36
Tabela 8- Parâmetros e níveis analisadas do planejamento fatorial para o pré-tratamento de bagaço de sorgo, da variedade IPA 467, considerando o percentual de conversão de xilose como parâmetro indicativo de eficiência do processo 37
Tabela 9- Amostras analisadas do planejamento fatorial para o pré-tratamento de bagaço de sorgo, da variedade IPA 467, considerando a dispersão de partículas na biomassa como parâmetro indicativo de eficiência do processo 38
Tabela 10- Parâmetros e níveis analisados do planejamento fatorial para o pré-tratamento de bagaço de sorgo, da variedade IPA 467, considerando a dispersão de partículas na biomassa como parâmetro indicativo de eficiência do processo 38
Tabela 11- Diferentes estratégias utilizadas para a extração da biomassa de palma forrageira, em sistema Soxhlet 40
Tabela 12- Gradiente da bomba utilizada no sistema de cromatografia de troca iônica de alta performance com detector amperométrico (HPAEC-PAD) 41
Tabela 13- Percentual de extrativos (extrato aquoso + extrato etanólico) do bagaço de sorgo, das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, em três diferentes fases de colheita, e desvio padrão das análises 42
Tabela 14- Açúcares redutores totais (ART) de amostras de extrato aquoso de bagaço de sorgo (em $g.L^{-1}$), das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, em três diferentes fases de colheita, e desvio padrão das análises 44
Tabela 15- Brix de amostras de extrato aquoso de bagaço de sorgo, das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, em três diferentes fases de colheita, e desvio padrão das análises 44
Tabela 16- pH de amostras de extrato aquoso do bagaço de sorgo, das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, em três diferentes fases de colheita, e desvio padrão das análises 45
Tabela 17- Condutividade ($mS.cm^{-1}$) de amostras de extrato aquoso de bagaço de sorgo, das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, em três diferentes fases de colheita, e desvio padrão das análises 46
Tabela 18- Composição química do bagaço de sorgo, da variedade IPA 467, cultivado no município de Goiana, estado de Pernambuco, nordeste do Brasil, no ano de 2011 49
Tabela 19- Percentual de redução de massa de bagaço de sorgo sacarino, da variedade IPA 467, após pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído, a 121°C, de acordo com planejamento fatorial 2^3 50

Tabela 20- Concentração de xilose encontrada no licor proveniente do pré-tratamento ácido de bagaço de sorgo sacarino, da variedade IPA 467, realizado a 121°C, de acordo com planejamento fatorial 2^3 50
Tabela 21- Percentual de conversão de xilose obtido através do pré-tratamento ácido do bagaço de sorgo sacarino, da variedade IPA 467, a 121 °C, de acordo com planejamento fatorial 2^3 51
Tabela 22- Percentual médio de extrativos obtidos pela extração de biomassa de palma forrageira em sistema Soxhlet e seus respectivos desvios padrão 54
Tabela 23- Resultados obtidos na caracterização química de palma forrageira, da variedade miúda, quanto ao teor de extrativos, cinzas e lignina 62
Tabela 24- Resultados obtidos na caracterização química de palma forrageira, da variedade gigante, quanto ao teor de extrativos, cinzas e lignina 63
Tabela 25- Açúcares estruturais da palma miúda, obtidos através da hidrólise da biomassa livre de extrativos e analisados em sistema de cromatografia de troca iônica de alta performance com detector amperométrico (HPAEC-PAC) 64
Tabela 26- Resultados obtidos na caracterização química de palma forrageira, da variedade miúda, quanto ao teor de extrativos, cinzas, lignina e açúcares estruturais, bem como o total de todos os compostos analisados 65
Tabela 27- Açúcares estruturais da palma gigante, obtidos através da hidrólise da biomassa livre de extrativos e analisados em sistema de cromatografia de troca iônica de alta performance com detector amperométrico (HPAEC-PAC) 66

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 1
2 OBJETIVOS 3
3 REVISÃO DE LITERATURA 4
3.1 FONTES DE ENERGIA 4
3.2 CULTURAS BIOENERGÉTICAS 8
3.2.1 Sorgo Sacarino 8
3.2.2 Palma Forrageira 9
3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS 11
3.3.1 Composição química do sorgo sacarino 16
3.3.2 Composição química da palma forrageira 18
3.4 CROMATOGRAFIA 20
3.5 PROCESSOS DE CONVERSÃO 22
3.6 PRÉ-TRATAMENTO 24
3.6.1 Classificação de pré-tratamentos 24
3.6.2 Tratamento Hidrotérmico 26
3.6.3 Explosão a vapor 27
3.6.4 Hidrólise Ácida 27
4 METODOLOGIA 29
4.1 EXTRAÇÃO DE BIOMASSA DE VARIEDADES DE SORGO SACARINO, EM DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DA PLANTA 29
4.1.1 Preparação de amostras para análises 29
4.1.2 Extração com água e extração com etanol 29
4.1.3 Caracterização do extrato aquoso 30
4.1.4 Análise estatística: experimento inteiramente casualizado 31
4.2 CARACTERIZAÇÃO E PRÉ-TRATAMENTO DE BAGAÇO DE SORGO SACARINO (IPA 467) 32
4.2.1 Preparação de amostras para análises 32
4.2.2 Fracionamento de partículas em peneiras 33
4.2.3 Caracterização química de bagaço de sorgo 33
4.2.4 Pré-tratamento- Hidrólise ácida 34
(a) Percentual de solubilização de componentes da biomassa de bagaço de sorgo 36
(b) Percentual de liberação de xilose 36
(c) Efeito do pré-tratamento na dispersão de partículas de bagaço de sorgo 37
4.2.5 Análise estatística: planejamento fatorial 38
4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA DE PALMA FORRAGEIRA 39
4.3.1 Preparação de amostras para análises 39
4.3.2 Extração em sistema Soxhlet 39
4.3.3 Extração em béquer, à temperatura ambiente 40
4.3.4 Quantificação de açúcares 40
5 RESULTADOS 42
5.1 EXTRAÇÃO DE BIOMASSA DE VARIEDADES DE SORGO SACARINO, EM DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DA PLANTA 42
5.1.1 Quantificação de extrativos 42
5.1.2 Caracterização do extrato aquoso proveniente de bagaço de sorgo 43
5.2 CARACTERIZAÇÃO QUIMICA E PRÉ-TRATAMENTO DE BAGAÇO DE SORGO SACARINO (IPA 467) 47
5.2.1 Fracionamento de partículas em peneira 47

5.2.2 Composição química do bagaço de sorgo sacarino 48
5.2.3 Pré-tratamento- Hidrólise ácida 49
(a) Percentual de solubilização de componentes da biomassa de bagaço de sorgo 49
(b) Percentual de liberação de xilose 50
(c) Efeito do pré-tratamento na dispersão de partículas de bagaço 52
5.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE PALMA FORRAGEIRA 54
5.3.1 Extração da biomassa de palma forrageira 54
5.3.2 Análise do extrato aquoso 56
5.3.3 Extração em béquer, à temperatura ambiente 60
5.3.4 Hidrólise ácida da biomassa livre de extrativos 62
5.3.5 Teor de açúcares estruturais na biomassa de palma forrageira livre de extrativos 64
6 CONCLUSÕES 67
7 TRABALHOS FUTUROS 68
REFERÊNCIAS 69
APÊNDICE 75
A- Determinação de umidade 76
B- Determinação de cinzas 76
C- Determinação de extrativos 77
D- Determinação de carboidratos e lignina 78
E- Desvio padrão amostral 81

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o petróleo figura como uma das principais fontes energéticas do mundo sendo responsável por mais de 40% do consumo final de energia (OECD; IEA, 2009) e, por se tratar de uma fonte não renovável, estima-se que suas reservas não serão suficientes para suprir a demanda existente por muitos anos. Além disso, a queima de combustível fóssil libera grande quantidade de CO_2, além de outros gases de efeito estufa (GEE), cujo aumento na atmosfera tem sido responsabilizado pelas mudanças climáticas observadas em todo o planeta (IPCC, 2007). É neste contexto que surge a necessidade de ampliar a oferta de energia proveniente de fontes alternativas e/ou renováveis, tais como eólica, solar e da biomassa, que minimizem a emissão de GEE.

Diversos países têm mostrado crescente interesse na produção de etanol a partir de biomassa, seja ela proveniente da cana-de-açúcar, sorgo sacarino, beterraba açucareira, ou proveniente de outras culturas mais adequadas às condições climáticas, de solo e culturais dos diferentes países. O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, sendo esta a principal fonte de biomassa para produção de etanol no país. Na região Nordeste do Brasil, até a década de 90, Pernambuco era o maior estado produtor. No entanto, desde então, vem passando por um período de crise com a estagnação da produtividade e até o fechamento de várias usinas (ANDRADE, 2001). Diante da importância do setor sucroalcooleiro para Pernambuco, faz-se necessário a criação de mecanismos para garantir seu desenvolvimento econômico e industrial.

O cultivo de sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L. Moench) em regiões onde a cana-de-açúcar já não apresenta produtividade satisfatória, devido ao menor índice pluviométrico e pela má distribuição das chuvas, pode representar uma boa alternativa, integrando o seu processamento ao da cana-de-açúcar. A partir do cultivo do sorgo, tanto é possível a produção de etanol de primeira geração, onde o caldo extraído da biomassa, rico em açúcares, pode ser diretamente fermentado a álcool, quanto o de segunda geração, onde o bagaço, resíduo da extração do caldo, é a matéria prima do processo. Nesse caso, em vez de açúcares livres, têm-se compostos lignocelulósicos que necessitam passar por processo de quebra de moléculas, para a liberação dos açúcares, antes de ser realizada a fermentação. No processo de hidrólise enzimática, etapas de pré-tratamento, como a hidrólise da biomassa com ácido sulfúrico diluído, são necessárias para facilitar o acesso das enzimas à fração celulósica por meio da

diminuição de cristalinidade, aumento da porosidade do material e remoção de hemicelulose, sendo esta etapa um dos focos deste trabalho.

Ainda no sentido de aumentar a oferta de energia proveniente de biomassa, avalia-se a possibilidade de ampliar as áreas de cultivo em Pernambuco para regiões semiáridas, que ocupam mais de 85% do território do estado. Uma cultura bastante adaptada à região semiárida é a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*; *Nopalea cochenilifera*), utilizada na alimentação animal e considerado o maior suporte forrageiro das regiões secas do nordeste brasileiro. Essa espécie botânica atinge as maiores produtividades de biomassa da região semiárida nordestina. Além disso, em comparação com outras culturas, sua produção é mais estável ao longo do tempo, sendo menos afetada pela irregularidade das chuvas nos anos secos (MENEZES et al., 2005). Entretanto, a determinação mais detalhada de sua composição química ainda é uma etapa necessária para a avaliação da viabilidade de seu uso como fonte de biomassa para produção de etanol.

Através da caracterização química de biomassas como a palma forrageira e o sorgo sacarino, espera-se contribuir para o desenvolvimento de conhecimento que poderá subsidiar, no futuro, o desenvolvimento de tecnologias para a produção de etanol de segunda geração e, consequentemente, a ampliação da oferta de combustível de origem renovável.

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Realizar a caracterização química da biomassa de sorgo sacarino e palma forrageira e avaliar metodologia de pré-tratamento de bagaço de sorgo, como matéria prima para a produção de etanol.

Objetivos Específicos

- Avaliar a influência da época de colheita em cultivares de sorgo produzidas em Pernambuco, através da quantificação de extrativos e da análise de açúcares redutores totais (ART), brix, pH e condutividade no resíduo líquido proveniente da lavagem aquosa do bagaço de sorgo.

- Determinar a composição química de variedades de bagaço de sorgo sacarino produzidos em Pernambuco.

- Realizar ensaios de hidrólise ácida de bagaço de sorgo, como etapa de pré-tratamento para a produção de etanol.

- Testar técnica de caracterização da biomassa de palma forrageira.

- Determinar a composição química da biomassa de palma forrageira produzida em Pernambuco.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 FONTES DE ENERGIA

O Brasil é reconhecido pela forte presença de fontes renováveis na oferta interna de energia elétrica, sendo grande parte devido ao setor hidroelétrico (Figura 1A). No entanto, em termos de consumo final de energia, apesar da presença significativa da eletricidade (16%), os derivados de petróleo ainda constituem a principal fonte de energia, respondendo por 42% do consumo final (Figura 1B), sendo cerca de 50% desse montante destinado aos transportes, através de combustíveis como o diesel e gasolina. Produtos da cana-de-açúcar, como o bagaço e o álcool, além de lenha e gás natural, somam-se a outras fontes de menor representatividade para completar o cenário atual do consumo final de energia no Brasil. (EPE, 2010).

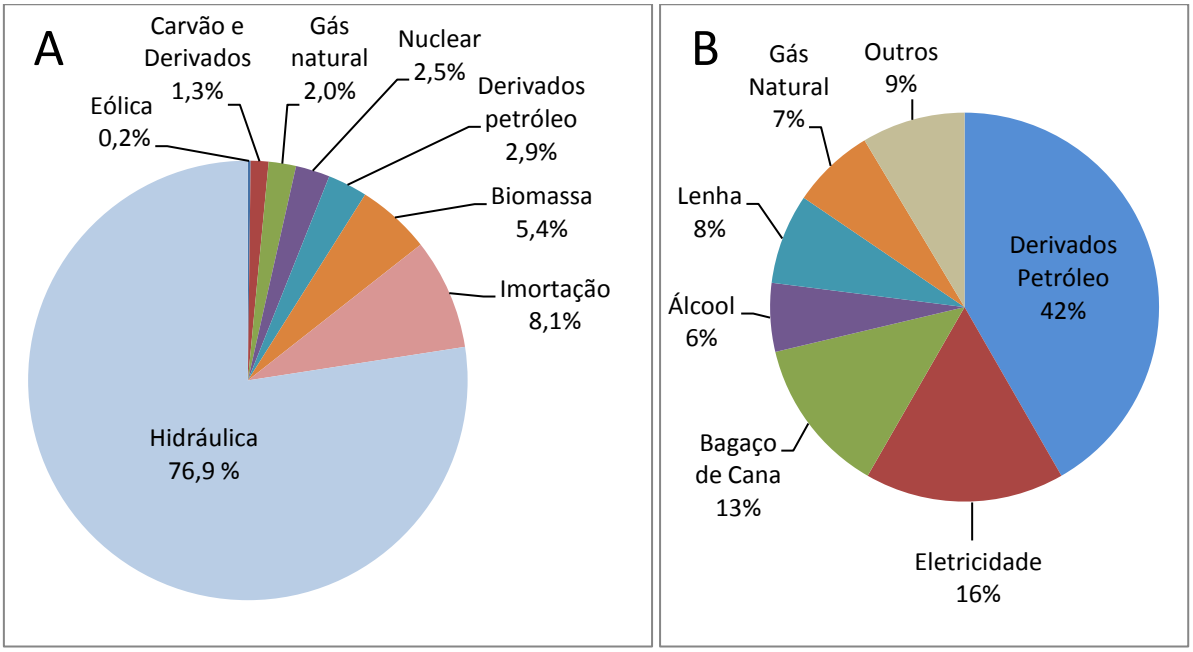


Figura 1- Oferta Interna de Energia Elétrica no Brasil em 2009 (A); Consumo Final de Energia no Brasil por Fonte, em 2009 (B) (Fonte: EPE, 2010).

Estudos da Empresa de Pesquisas Energéticas (Ministério de Minas e Energia, 2009), baseados em projeção do cenário macroeconômico do país, apontam para o ganho de importância das fontes renováveis de energia na matriz energética brasileira, em detrimento

dos derivados de petróleo, que irão crescer com taxa menor que a média, diminuindo sua participação no consumo final de energia de 40,5% em 2008 para 36,5% em 2017 (Figura 2).

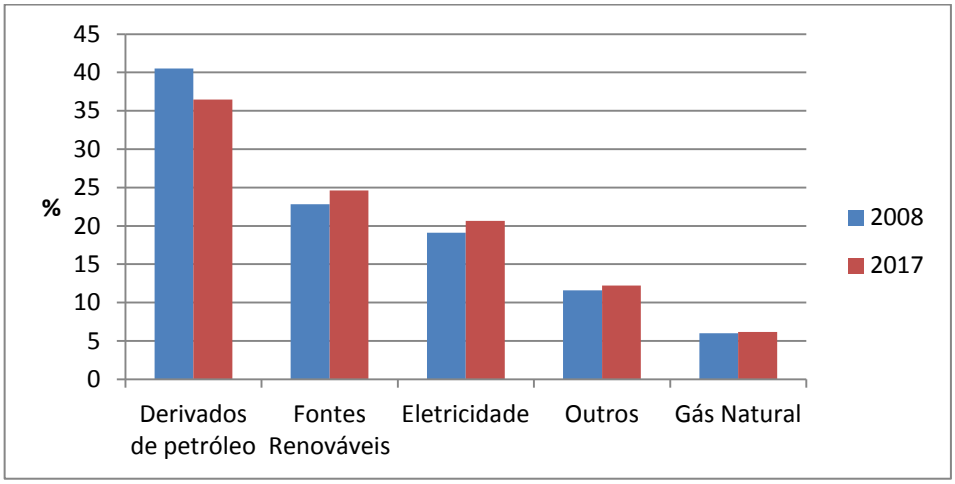


Figura 2- Estimativa de Consumo Final de Energia para 2017 (Fonte: Ministério de Minas e Energia, 2009).

Para suprir essa crescente demanda por energia derivada de fontes menos poluentes que o petróleo, faz-se necessário ampliar a oferta de energia proveniente de fontes alternativas e/ou renováveis, tais como eólica, solar e da biomassa.

Energia da Biomassa

O conceito de biomassa é aplicado aos recursos naturais que dispõem de bioenergia e que podem ser processados para fornecer formas bioenergéticas mais elaboradas e adequadas para o uso final como, por exemplo, o etanol, sendo bioenergia definida como "toda e qualquer forma de energia associada a formas de energia química acumulada mediante processos fotossintéticos recentes" (BNDES e CGEE, 2008, p.25). Nesse sentido, quanto maior a capacidade de realizar fotossíntese mais biomassa será produzida e maior será o potencial energético de uma determinada cultura, sendo, portanto, um parâmetro para indicar sua eficiência e o quanto ela pode ser competitiva diante de outras espécies. Dentre as culturas bioenergéticas voltadas para a produção de combustível líquido, como o etanol, pode-se destacar, atualmente, o milho e a cana-de-açúcar. Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (Food and Agriculture Organization of the United Natios -

FAO), o maior produtor de cana-de-açúcar no mundo é o Brasil, enquanto o maior produtor de milho é os Estados Unidos (FAO, 2010). Segundo a Embrapa (2010), no Brasil, 70% da produção de milho em grãos é destinada à alimentação, sendo a maior parte para ração animal, já a cana é utilizada na produção tanto de álcool quanto de açúcar.

De acordo com Tabosa (2010), em Pernambuco, a produtividade do milho é de 0,7 a 0,8 $t.ha^{-1}$, muito baixa em relação à média nacional de 2008 de 4,09 $t.ha^{-1}$, segundo dados da FAO (2010) e ainda menor se comparada com a média dos EUA de 9,66 $t.ha^{-1}$. Além da baixa produtividade, está inserida em um mercado com oferta deficiente frente à demanda apresentada por empresas avícolas, que utilizam o produto como ração animal, e seu uso como matéria prima para produção de combustível geraria competição com este setor. Alguns estudos indicam ainda que o milho não apresenta balanço energético satisfatório como biocombustível, só sendo possível sua produção nos EUA com este fim devido aos subsídios fornecidos pelo governo. Fica evidente, portanto, que não se trata de uma cultura recomendada como fornecedora de biomassa para produção de etanol em Pernambuco.

Já a cana-de-açúcar, até a década de 90, tinha em Pernambuco o maior produtor do Nordeste. Entretanto, o setor não tem apresentado desenvolvimento em termos de aumento de produção ou de área plantada, resultando em uma produtividade de cerca de 50 $t.ha^{-1}$, muito abaixo da média nacional de 79,71 $t.ha^{-1}$, segundo FAO (2010). Trata-se de um cenário oposto ao encontrado na região centro-sul, atualmente responsável por cerca de 90% da produção do país, com crescimento tanto em produção quanto em produtividade.

Andrade (2001) acreditava que as restrições de crédito, aspectos naturais, como relevo, ocorrência de secas, e a concorrência de Pernambuco com outros estados produtores, que empregam melhores práticas de cultivo, investem na mecanização e no melhoramento de espécies, tornariam o desempenho do Estado ultrapassado. Além disso, o autor alertou para os impactos sócio-econômicos negativos associados ao encerramento das atividades de uma usina sobre a população trabalhadora, tanto agrícola, quando industrial, pois se trata de um setor com altos índices de emprego, especialmente no período de colheita.

Diante da importância do setor sucroalcooleiro para o estado de Pernambuco e da atual situação de perda de importância frente a concorrência com outros estados, torna-se necessário o estudo de novas tecnologias capazes de adequar o sistema produtivo às características da região e permitir o seu desenvolvimento. Uma alternativa em estudo é a

diversificação da matéria prima, o que demanda a pesquisa para identificar outros tipos de biomassa que melhor atendam as condições de cultivo em Pernambuco.

O sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* L. Moench) é uma alternativa promissora, especialmente nas regiões onde a cana-de-açúcar não apresenta produtividade satisfatória devido ao menor índice pluviométrico e pela má distribuição das chuvas, a medida que é apresentada como uma cultura de grande eficiência fotossintética, com requerimento de água inferior ao apresentado pela cana-de-açúcar, muito resistente às secas, à inundação, à salinidade e às condições alcalinas (WINNER NETWORK, 2002). Possivelmente, apresenta desvantagens como menor produtividade de açúcares e degradação pós-colheita mais acentuada, além de outras dificuldades relativas ao controle de pragas e doenças.

Nessa mesma linha, a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*; *Nopalea cochenilifera*) é ainda mais eficiente no que diz respeito à produção de biomassa por unidade de água consumida, por isso é uma espécie bem adaptada e amplamente cultivada na região semiárida nordestina, onde se apresenta como uma das culturas de maior produtividade de biomassa.

Dados sobre a produtividade de biomassa da palma forrageira na Zona da Mata da região Nordeste ainda são escassos, mas espera-se que essa espécie possa ser capaz de atingir produtividades de biomassa comparáveis às da cana-de-açúcar, porém sem necessidade de irrigação. Resta, entretanto, determinar se a biomassa da palma poderá ser convertida em etanol de forma economicamente viável.

3.2 CULTURAS BIOENERGÉTICAS

3.2.1 Sorgo Sacarino

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é uma gramínia C4, originária provavelmente da África. Com cerca de 45 milhões de hectares de área cultivada, espalhadas em diversos países, o sorgo fica atrás apenas no milho, trigo, arroz e cevada (FAO, 2011), sendo portanto, o quinto cereal mais cultivado no mundo. Dentre as suas principais características, destaca-se a resistência ao estresse hídrico e o desenvolvimento em solos com problemas de salinidade (FAO, 2002; MILLER, 1977). Vários países dão atenção especial ao sorgo sacarino como uma boa alternativa para a produção do etanol, como por exemplo, China, Índia e EUA (MARCOCCIA, 2007). No Brasil, estudos do sorgo como matéria-prima para a produção de etanol tiveram inicio na década de 70, após a primeira crise do petróleo, no entanto, não tiveram continuidade, à medida que a cana-de-açúcar se tornou a principal cultura energética.

Ultimamente, essas pesquisas tem sido retomadas devido à necessidade de ampliação da oferta de biomassa e às vantagens apresentadas pelo sorgo. Por ser uma cultura de ciclo vegetativo curto (90 a 130 dias) mostra-se favorável ao complemento na produção de etanol durante o período de entressafra da cana-de-açúcar, bem como pode possibilitar a produção em pequenas e médias propriedades, uma vez que estas permitem uma maior rotação de culturas. O processo de obtenção do etanol a partir do sorgo é semelhante ao da cana, o que permite que o sorgo seja utilizado nas próprias usinas de cana-de-açúcar. Além disso, devido a sua alta eficiência na utilização de água espera-se que o sorgo seja capaz de produzir etanol com menor consumo de água que a cana-de-açúcar, contribuindo para o melhor aproveitamento deste recurso cada vez mais escasso, além de possibilitar seu plantio em áreas com baixos índices pluviométrico e redução de custos com irrigação. Em Pernambuco, o cultivo de sorgo sacarino não é uma prática consolidada. Na realidade muito mais comum é encontrar pequenas plantações de sorgo granífero ou forrageiro utilizados principalmente para fins de alimentação animal.

Segundo a Embrapa (2009), o sorgo responde à interação de diversos fatores, sendo a temperatura do ar, a radiação solar, a precipitação e a disponibilidade de água no solo os de maior influência. Além disso, as variedades de sorgo são muito diferentes entre si, resultando em características específicas da planta e do grão para cada uma delas e influenciando em sua

adaptação a fatores ambientais, sendo, portanto, de suma importância o estudo das variedades adequadas a cada região. Monteiro et. al. (2004) estudaram 51 genótipos de sorgo, sendo a maioria deles espécies de sorgo forrageiro, e encontraram valores de produtividade de matéria seca variando de 4 a 13 $t.ha^{-1}$ e eficiência no uso de água entre 250 a 1700 kg de água por kg de matéria seca. Outros estudos indicavam uma média de 329 kg de água por kg de matéria seca produzida, em Pernambuco (TABOSA et al., 2002). Souza et al. (2005) estudando a variedade de sorgo IPA-467 obtiveram produtividade de 64 toneladas por hectare, considerada bastante elevada, e com rendimento de 3,5 $t.ha^{-1}$ para as sementes.

Deve-se ressaltar, no entanto, que o cultivo ocorreu em condições de irrigação e adubação orgânica e mineral. A cana-de-açúcar cultivada em tais condições apresenta rendimento bastante superior ao rendimento médio de Pernambuco. Estudos realizados em condições de estresse hídrico e com relevo e o solo menos propícios para a agricultura devem ser realizados a fim de identificar o quanto a produtividade é afetada nestas condições. A avaliação da possibilidade do uso do sorgo sacarino como matéria prima complementar à cana-de-açúcar em Pernambuco depende de pesquisas realizadas neste contexto. Em se tratando de uma alternativa viável, da mesma forma que para a cana-de-açúcar, também se faz necessário o desenvolvimento da tecnologia de geração de combustíveis de segunda geração para o sorgo.

3.2.2 Palma Forrageira

A palma forrageira é uma planta da família das Cactáceas, originária do México e introduzida no Brasil no final do século XIX (FAO, 2001). No nordeste do Brasil, são cultivadas principalmente as espécies *Opuntia fícus-indica* e *Nopalea cochenilifera*, que se destacaram como importantes forrageiras na região semiárida, cultivadas em centenas de milhares de hectares (MENEZES et al., 2005). Seu principal uso no Brasil é para a alimentação animal. No entanto, apresenta uma vasta possibilidade de utilização.

Algumas das diversas espécies e variedades de palma existentes, por exemplo, fornecem um fruto doce, conhecido como figo-da-índia, usado para consumo *in natura* ou para processamento para fabricação de doces, geléias e sucos. Já os cladódios jovens da palma, em alguns países, são comumente utilizados na alimentação humana, em saladas, sucos ou pratos preparados em receitas variadas. A palma é também utilizada na produção de

corantes, através da criação de cochonilhas, e como medicamento para controle de diabetes e redução do colesterol, sendo relatado também seu uso no controle da erosão e a recuperação de solos degradados.

A palma é uma planta com grande capacidade de adaptação ao meio, principalmente devido a modificações morfológicas e fisiológicas que fazem dela uma das plantas com maior capacidade de produção de biomassa em regiões secas (SANCHES e PÉREZ, 1991; GARCÍA DE CORTÁZAR e NOBEL, 1990). Sua melhor adaptação bioquímica à fotossíntese a torna mais eficiente no uso da água do que as demais plantas, permitindo ampla reserva de água nos seus tecidos. Tal característica é muito importante, uma vez que regiões com pouca disponibilidade de água, como na região semiárida do Nordeste do Brasil, onde além de reduzida a precipitação pluviométrica ocorre de forma irregular, resultando em forte déficit hídrico na maior parte do ano. Dessa forma, sob as mesmas condições de deficiência hídrica, a palma ganha em produtividade comparada com outras plantas (SAMPAIO, 2005).

Em condições favoráveis, a palma pode apresentar valores de produtividade variando de 45 a 50 $t.ha^{-1}.ano^{-1}$ em matéria seca (NOBEL, 1995). Menezes et al. (2005) relatam que a produção de biomassa pela palma, em comparação com outras culturas agrícolas é mais estável ao longo do tempo, uma vez que é menos afetada pela irregularidade das chuvas nos períodos de seca. Medidas da produtividade anual de biomassa pela palma em 50 campos de cultivo localizados na região semiárida de Pernambuco e da Paraíba apresentaram média de 74 $t.ha^{-1}$ de biomassa fresca, enquanto os cinco campos mais produtivos apresentaram média de 170 $t.ha^{-1}$ de biomassa fresca por ano (MENEZES et al., 2005). Esses são valores expressivos de produção de biomassa, principalmente considerando a limitação hídrica da região semiárida.

Dada a sua elevada capacidade de produção de biomassa em zonas secas, a palma pode ser uma fonte de biomassa potencial para produção de bioenergia. Entretanto, ainda não há informações sobre a qualidade da biomassa das diferentes espécies cultivadas em diferentes condições ambientais. A partir da investigação mais detalhada da composição da palma, será possível a análise de seu uso em processos para produção de combustíveis. Pouco se sabe a respeito da presença de açúcares fermentecíveis, da quantidade de lignina que pode ser utilizado para produção de energia através da queima, ou, ainda, da presença de outros constituintes, de maior valor agregado, que tornem viável o surgimento de outro tipo de indústria, que não a de fins energéticos.

3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Materiais lignocelulósicos, como madeira, bagaço e palha, são constituídos por polímeros naturais de carboidratos conhecidos como celulose e hemicelulose, além de lignina, uma macromolécula orgânica, e pequenas quantidades de outras substâncias, como extrativos e cinzas (GÓMEZ et al., 2008). A quantidade de cada constituinte varia de acordo com a espécie e condições de crescimento da planta.

A celulose é o principal constituinte dos materiais lignocelulósicos. Trata-se de um polímero homogêneo (parte cristalino, parte amorfo) formado por moléculas de anidro-glicose unidas por ligações do tipo β-(1,4) glicosídicas de fórmula geral $(C_6H_{10}O_5)n$, proporcionando assim um crescimento linear da cadeia macromolecular (Figura 3).

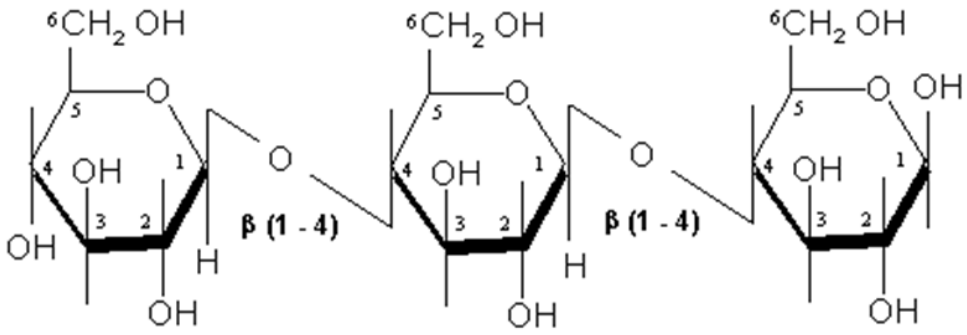


Figura 3- Fórmula estrutural da celulose.

Quando a celulose é hidrolisada, ou seja, quando as ligações entre as moléculas são quebradas, o polímero é destruído e são liberados os seus constituintes, as moléculas de glicose. Esse monossacarídeo pode, então, ser fermentado, produzindo etanol. No entanto, na biomassa, a celulose não é encontrada sozinha. Em sua região amorfa, encontra-se a hemicelulose.

A hemicelulose, também conhecida como poliose, é um polímero heterogêneo formado por monômeros de xilose e arabinose (pentoses), além de glicose, manose e galactose (hexoses), podendo ainda apresentar quantidades variáveis de ácidos urônicos e desoxi-hexoses (FENGEL E WEGENER, 1984). Dessa forma, a hidrólise da hemicelulose libera além de glicose, outros monossacarídeos. Na verdade, a xilose é o principal constituinte da hemicelulose em materiais lignocelulósicos como a madeira, o bagaço e a palha.

A Figura 4 mostra a estrutura dos monossacarídeos que formam as polioses.

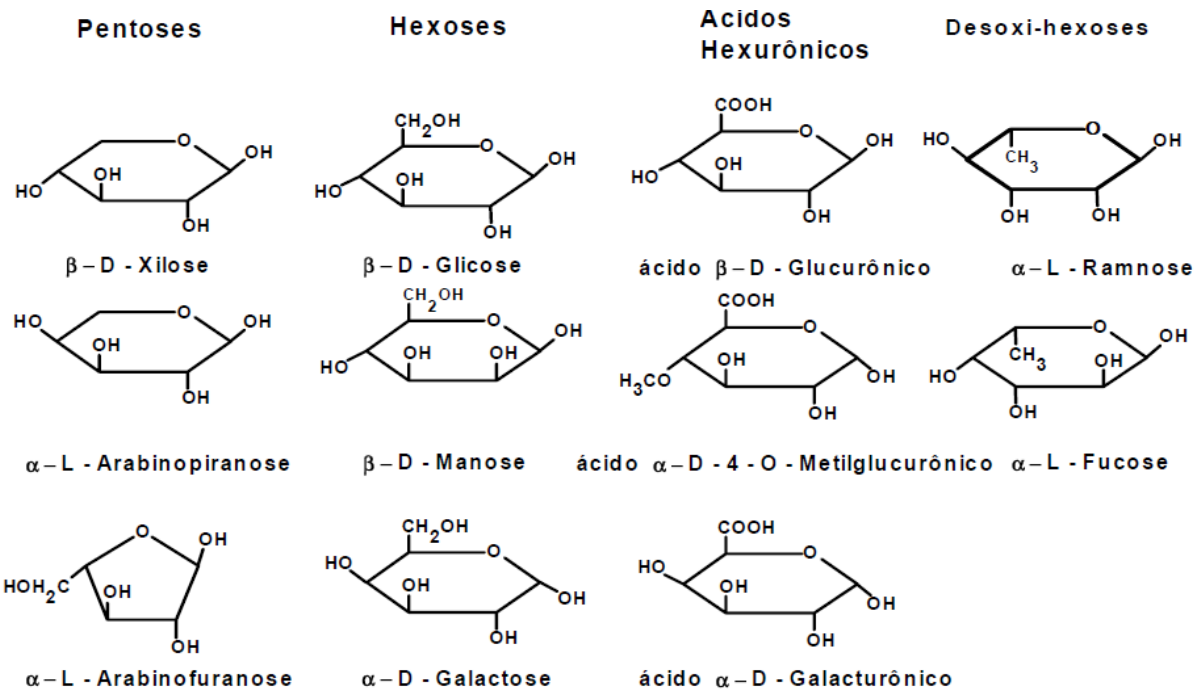


Figura 4- Estrutura dos monossacarídeos que formam as polioses (Fonte: FENGEL e WEGENER, 1984).

Nem todos os açúcares que constituem as hemiceluloses podem ser facilmente fermentados, como ocorre com a glicose. Há estudos para tornar economicamente viável a fermentação de pentoses, como a xilose, através da seleção e melhoramento de microorganismos capazes de desempenhar essa função, bem como através do desenvolvimento de rotas de processamento que diminuam as dificuldades atualmente encontradas. No entanto, alguns autores defendem o uso de xilose para outros fins, como para a produção de xilitol, um produto de maior valor agregado, muito utilizado na indústria alimentícia como adoçante, por ser tão doce quanto à sacarose, mas cerca de 40% menos calórico.

As hemiceluloses possuem cadeia molecular bem mais curta que a da celulose, podendo existir grupos laterais e algumas ramificações, e encontram-se intercaladas às microfibrilas de celulose dando elasticidade e impedindo que elas se toquem. Concentrada nos espaços localizados entre as microfibrilas e, nas regiões amorfas, entre cristais de celulose, encontra-se a lignina (Figura 5).

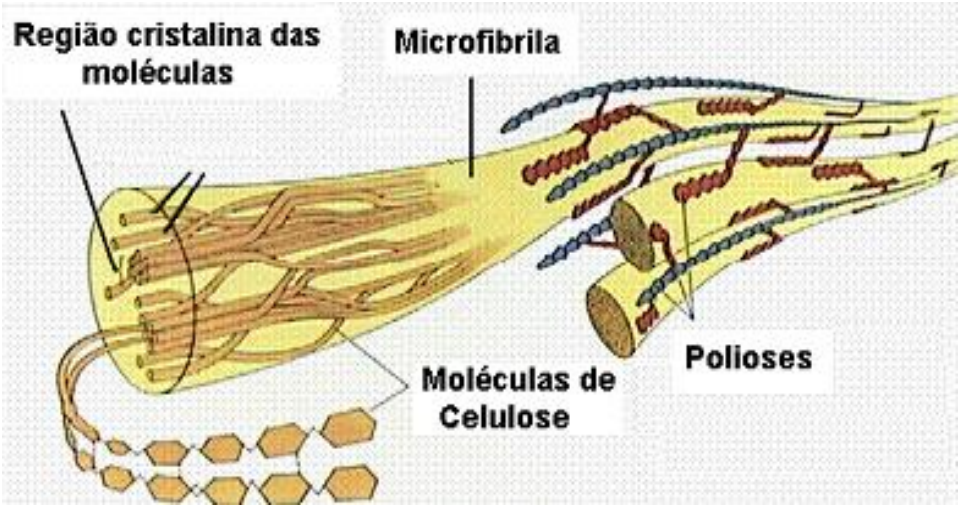


Figura 5- Estrutura das moléculas de celulose e hemicelulose (Fonte: PURVES et al.).

A lignina é uma macromolécula orgânica, tridimensional e amorfa, formada principalmente por unidades de fenilpropano, substituídas em várias posições por um anel de benzeno (GÓMEZ et al., 2008). O acoplamento das unidades fenilpropano não ocorre de forma regular e repetitiva, o que é atribuído ao mecanismo da biossíntese da lignina, que se processa por via radicalar a partir da reação de três diferentes alcoóis cinamílicos precursores, álcool p-cumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico, mostrados na Figura 6.

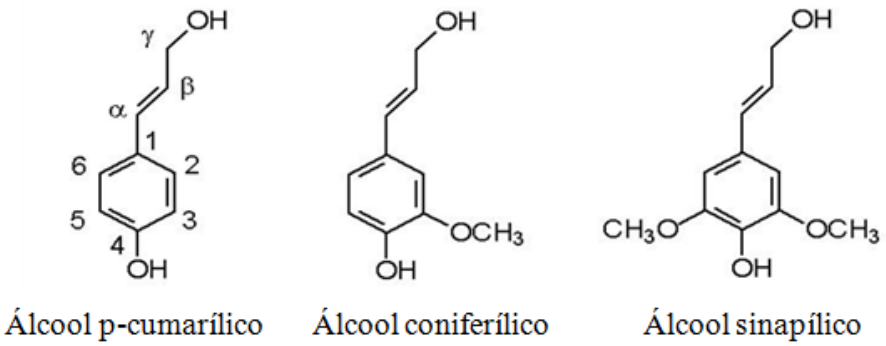


Figura 6- Alcoóis cinamílicos precursores da lignina (Fonte: FENGEL e WEGENER, 1984).

Além de seus constituintes principais, os materiais lignocelulósicos podem conter, em menores quantidades, amido, proteína, minerais (principalmente potássio, cálcio e magnésio) e extrativos- compostos fenólicos (taninos e flavonoides), terpenos, ácidos alifáticos (gorduras, óleos e ceras) e alcoóis (FENGEL e WEGENER, 1984). Estas substâncias desempenham um papel importante no metabolismo e proteção contra doenças nas plantas,

mas, aparentemente, não contribuem para o processo de transformação de biomassa em etanol. Outros materiais, como frutas, verduras e até mesmo a palma forrageira, possuem uma matriz diferente dos materiais lignocelulósicos e podem ser ricas em substâncias como vitaminas, minerais, amido, pectina e mucilagens.

Amido é uma mistura de dois polissacarídeos, amilose e amilopectina, ambos polímeros de glicose. A molécula da amilose não tem ramificações e apresenta conformação helicoidal (forma de hélice). A ligação entre os átomos de carbono das unidades de glicose são do tipo α 1-4 (Figura 7).

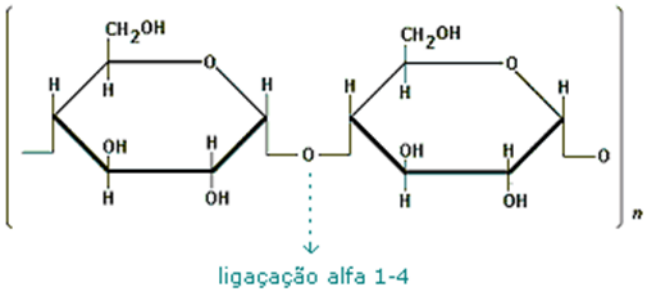


Figura 7- Fórmula estrutural da amilose.

A amilopectina apresenta estrutura ramificada, sendo que as ramificações aparecem a cada 24-30 moléculas de glicose. A ligação entre as unidades de glicose também é do tipo alfa 1-4 na mesma cadeia. Porém, unindo duas cadeias aparecem ligações do tipo α 1-6. (Figura 8)

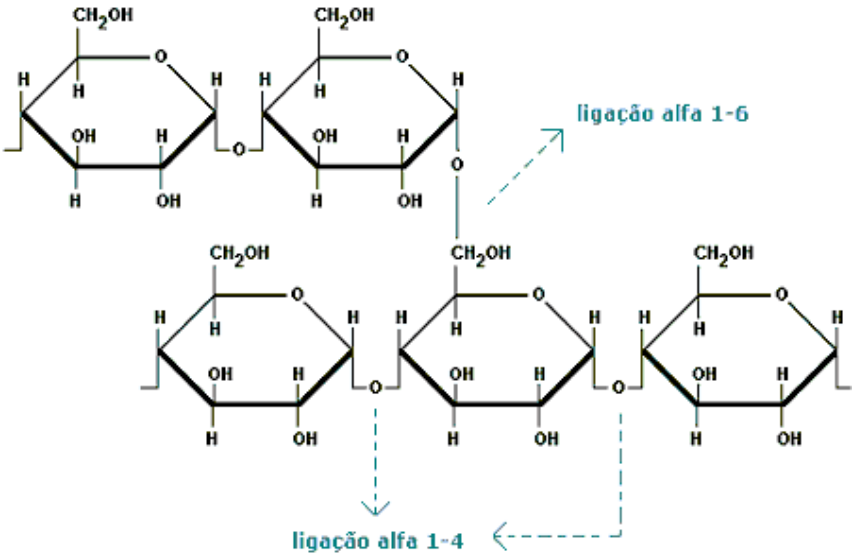


Figura 8- Estrutura da amilopectina.

O grupo das pectinas abrange a protopectina, os ácidos pécticos e os ácidos pectínicos. Os ácidos pécticos e os ácidos pectínicos são originados a partir da protopectina, que está presente nos vegetais e frutas verdes, e encontra-se ligada ao cálcio, formando o pectato de cálcio, que é insolúvel em água. A protopectina é responsável por conferir resistência ao tecido e tem a maior parte dos seus grupos carboxílicos esterificados. Todas essas substâncias são polímeros de ácido galacturônico, que diferem entre si pela solubilidade em água e pelo grau de metoxilação- número de grupos $–CH_3$ esterificados na molécula (Figura 9).

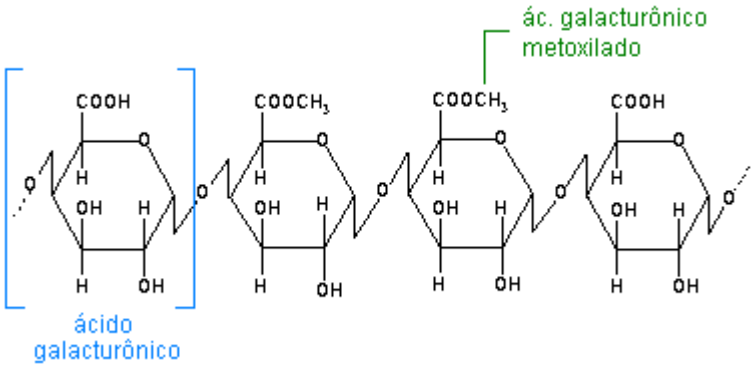


Figura 9- Estrutura das substâncias pécticas.

O ácido péctico é um polímero de ácido galacturônico que não apresenta metoxilação e forma coloides em água, enquanto o ácido pectínico apresenta metoxilação e pode ser solúvel ou insolúvel. Denomina-se como pectinas justamente os ácidos pectínicos solúveis em água, podendo conter, ligados às moléculas de ácido galacturônicos, monossacarídeos como a galactose, arabinose e ramnose (BRANDÃO e ANDRADE, 1999).

As pectinas com alto grau de metoxilação são capazes de reter moléculas de água em suas ramificações, possuindo considerável poder gelificante e, por isso, são amplamente utilizadas na indústria alimentícia para a obtenção de geléias. A formação de géis ocorre em meio ácido e na presença de um co-soluto, geralmente a sacarose. Em altas concentrações de açúcar, tanto as pectinas de alta quanto as de baixa metoxilação podem formar gel, mas se a concentração de açúcar for baixa, apenas as de baixa metoxilação formam gel e, ainda, somente na presença de certos cátions, sendo o cálcio o mais comum.

O processo de gelificação é complexo, havendo, ainda, divergência sobre seu mecanismo (BRANDÃO E ANDRADE, 1999), mas sabe-se que a presença de cadeias laterais, principalmente com unidades de arabinose e galactose, afeta significativamente as

propriedades funcionais das pectinas, tais como solubilidade, velocidade e capacidade de gelificação, formação de filme e propriedades reológicas, além de favorecer a agregação em soluções concentradas.

Em alguns vegetais, além de amido e/ou a pectina, encontram-se outras substâncias agregadas, como glicoproteínas, ácidos orgânicos, açúcares e outros carboidratos. A essa fração, dá-se o nome de mucilagem. É, portanto, um líquido viscoso e pegajoso, rico em polissacarídeos e com a capacidade de reter água, aumentando de volume.

3.3.1 Composição química do sorgo sacarino

Assim como é realizado com a cana-de-açúcar, pode ser feita a moagem dos colmos de sorgo sacarino, a fim de extrair uma fração líquida rica em açúcares, chamada de caldo. O resíduo sólido da moagem é, então, chamado de bagaço. Ribeiro Filho et al. (2007), estudando o sorgo sacarino cultivado no estado da Paraíba, no nordeste do Brasil, conseguiram fracionar o colmo de sorgo em cerca de 30% de caldo e 70% de bagaço. Analisando esse caldo obtido, encontraram cerca de 10% de (açúcares redutores totais) ART e 12° Brix, mostrando se tratar de uma boa matéria-prima para fermenteção. Dutra et al. (2011) analisou 10 variedades de sorgo sacarino cultivados no estado de Pernambuco e encontrou Brix variando de 9 até 18, e ART de 6 a 17 $g.(100\ mL)^{-1}$.

Obviamente que a qualidade e a quantidade de caldo obtido depende da técnica de moagem empregada e que a caracterização química do caldo de sorgo deve envolver a análise de outros parâmetros, além de Brix e ART. No entanto, com tais resultados já é possível indicar que o sorgo sacarino cultivado em regiões do Nordeste do Brasil pode apresentar percentual de açúcares adequados à fermentação para produção de etanol. É preciso, ainda, considerar os parâmetros de produtividade em campo para tornar essa análise mais realista e significativa, afinal, encontrar uma cultura que apresente bastante açúcar em seus colmos mas que tenha baixa produção de biomassa resultaria em pouca produção de açúcar por área cultivada.

Além do caldo de sorgo sacarino, têm-se o bagaço, um material lignocelulósico rico em celulose, hemicelulose e lignina. É possível encontrar uma grande variação em sua composição, relatada por diversos autores. O percentual de celulose encontra-se

predominantemente na faixa de 32 a 45%, o de hemicelulose entre 16 e 27%, e a lignina varia de 14 a 20%, segundo a Tabela 1, que relaciona os resultados de alguns autores. Esta grande diferença se dá devido ao uso de sorgo das mais diversas variedades, cultivado e processado em condições distintas, e também devido ao emprego de técnicas analíticas diferentes em cada estudo, sendo mais comuns metodologias baseadas nas normas do *National Renewable Energy Laboratoty* (NREL) (HAMES et al., 2008; SLUITER et al., 2008a), da TAPPI (*Techinical Association of the Pulp and Paper Industry*) e de Van Soest (1963).

Tabela 1- Composição média do bagaço de sorgo sacarino, encontrada por diversos autores

Bagaço de Sorgo	Cel	Hem	Lig	Ext	Cin	Total	Fonte (Metodologia)
SS-NL	27,3	14,5[A]	14,3[ni]	32,3[D]	-	88,4	Li et al., 2010 (NREL)
SS-L	38,3	20,0[A]	19,7[ni]	14,5[D]	-	92,5	Li et al., 2010 (NREL)
SF-NL	35,6	20,2[A]	18,2[ni]	18,7[D]	-	92,7	Li et al., 2010 (NREL)
SS-L	45,0	16,7[ni]	14,9[C]	ni	2,6	79,2	Belayachi e Demas, 1995 (TAPPI)
SS-NL	32,5	19,8[ni]	11,7[ni]	17,5[F]	-	81,5	Xu et al., 2010 (NREL)
SS-L	38,5	21,4[A]	17,6[C]	13,7[D]	3,7	94,9	Panagiotopoulos et al., 2010 (TAPPI)
SS	45,2	26,5[A]	16,6[B]	6,8[ni]	-	95,1	Yu et al., 2011 (NREL)
S	45,2	30,5[A]	22,0[C]	1,9[E]	0,3	99,9	Salvi et al, 2010 (NREL)
SS	44,6	27,1[ni]	20,7[ni]	-	0,4	92,8	Kim; Day, 2010 (ni)
SS-L	45,3	26,3	15,2	-	-	86,8	Zhang et al., 2010 (Van Soest)

Cel- Celulose; Hem- Hemicelulose; Lig- Lignina; Ext- Extrativos; Cin- Cinzas;
S- Sorgo; SS- Sorgo Sacarino; SF- Sorgo Forrageiro; L- Lavado; NL- Não lavado
ni- não informado; A-Foram quantificados xilose e arabinose para o cálculo da hemicelulose; B-Foi quantificada apenas a lignina insolúvel; C-Foi quantificado a lignina solúvel e a insolúvel; D-Foram realizadas duas etapas de extração: uma com água e outra com solvente; E-Foi realizada extração apenas com solvente; F-Foi realizada extração apenas com água;

À partir da Tabela 1 é possível observar que as diferenças analíticas começam já na preparação das amostras. Alguns autores realizam a lavagem do bagaço com água, seguido de uma ou mais etapas de extração (LI et al., 2010; BELAYACHI e DEMAS, 1995; PANAGIOTOPOULOS et al., 2010) No entanto, Xu et al. (2010) trabalham com o bagaço sem prévia lavagem, realizando posteriormente uma extração aquosa, e alguns outros autores não deixam claro o procedimento utilizado.

3.3.2 Composição química da palma forrageira

Por ser uma cultura utilizada principalmente como forragem, os estudos realizados com a palma forrageira são voltados para determinação de parâmetros que indiquem o valor nutritivo de sua biomassa. São comuns análises de digestibilidade, teor de proteína, matéria orgânica e matéria mineral. Em termos de composição de carboidratos, determinações de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) pela técnica de Van Soest (1963) é a análise mais comum. Segundo Santos et al. (2005), a composição química da palma varia de acordo com a espécie, variedade, idade da planta e do cladódio, nível de fertilidade do solo, espaçamento e época do ano. De uma forma geral, a palma apresenta baixo nível de matéria seca, e baixo teor de fibras, conforme pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2- Composição da biomassa de palma forrageira, encontrada por diversos autores

Palma	MS (%)	FDN (%)	FDA (%)	CNF (%)	Fonte
Opuntia (G)	12,63	26,17	20,05	-	Wanderley (2001) apud Santos et al. (2005)
Opuntia (G)	11,56	25,65	17,27	66,75	Alburquerque (2000) apud Santos et al. (2005)
Opuntia (G)	8,24	-	22,39	-	Santos et al. (2000) apud Santos et al. (2005)
Opuntia (G)	16,32	26,70	14,29	-	Mattos (2000) apud Santos et al. (2005)
Opuntia (G)	14,4	17,6	-	-	Batista et al. (2001) apud Santos et al. (2005)
Opuntia (G)	7,83	29,07	25,77	50,30	Tosto et al. (2007)
Opuntia (G)	12,63	26,17	20,05	61,79	Andrade (2001) apud Silva e Santos (2006)
Opuntia (G)	8,72	35,09	23,88	50,93	Magalhães (2002) apud Silva e Santos (2006)
Opuntia (G)	7,62	27,69	17,93	55,63	Araujo (2002) apud Silva e Santos (2006)
Opuntia (G)	10,70	25,37	21,79	53,23	Melo (2002) apud Silva e Santos (2006)
Opuntia (G)	14,40	28,10	17,60	-	Batista et al. (2003) apud Silva e Santos (2006)
Opuntia (R)	7,97	-	22,19	-	Santos et al. (2000) apud Santos et al. (2005)
Opuntia (I)	13,80	28,40	19,40	-	Batista et al. (2003) apud Silva e Santos (2006)
Nopalea (M)	13,08	26,60	13,66	71,17	Araujo (2002) apud Silva e Santos (2006)
Nopalea (M)	11,02	-	22,97	-	Santos et al. (2000) apud Santos et al. (2005)
Nopalea (M)	12,00	26,90	16,50	-	Batista et al. (2003) apud Silva e Santos (2006)

(G) = palma gigante; (R) = palma redonda; (M) = palma miúda; (I) = IPA-20;
MS = Matéria Seca;
FDN = Fibra em Detergente Neutro (representa o somatório de celulose, hemicelulose e lignina);
FDA = Fibra em Detergente Ácido (representa o somatório de celulose, lignina e cinzas)
CNF = Carboidratos Não Fibrosos

Os polímeros fibrosos são constituídos basicamente por celulose e hemicelulose, enquanto a fração de polímeros não fibrosos é representada por açúcares, amido, ácidos orgânicos, outros tipos de reserva de carboidratos e a pectina. Na palma, o percentual de carboidratos não fibrosos (CNF) é extremamente alto, acima de 50% (Tabela 2), enquanto para o sorgo esse valor não passa de 15% (PEDREIRA et al., 2003). Além disso, no sorgo o percentual de fibra em detergente neutro (FDN), correspondente à celulose, hemicelulose e lignina, representa, em média, pelo menos 50% da matéria seca (PEDREIRA et al., 2003). Na palma esse valor varia, de acordo com dados da Tabela 2, de 17 a 35%, muito abaixo do teor de FDN encontrado no sorgo. Esse mesmo comportamento é observado na determinação de fibra em detergente ácido (FDA), que inclui a celulose, lignina e cinzas, e costuma ficar acima de 30% para o sorgo (PEDREIRA at al., 2003), mas na palma representa em média apenas 20% (Tabela 2).

Como o teor de fibra é baixo e a fração de carboidratos solúveis é alta, espera-se que a palma possua pouca celulose e hemicelulose em comparação com outros materiais lignocelulósicos, como o sorgo, e alto conteúdo de fibras solúveis. Sabe-se também que a palma possui mucilagem em sua composição, no entanto, existem divergências quanto à composição dessa fração (MALAININE et al., 2003). Trata-se, portanto, de uma matéria-prima muito diferente de outras tradicionalmente utilizadas em pesquisas para conversão de biomassa em biocombustíveis, o que torna difícil a transferência de métodos e técnicas, utilizadas em outros materiais, para uso na palma.

De qualquer forma, para tornar essa comparação efetiva é preciso empregar esforços na caracterização química da palma segundo as metodologias utilizadas para os demais materiais lignocelulósicos, visto que os parâmetros nutricionais não são os de maior relevância para a avaliação do potencial energético da biomassa. É importante a determinação detalhada das principais frações fibrosas (celulose, hemicelulose e lignina). Na análise bromatológica esse tipo de determinação é realizado de forma indireta, através das análises FDN e FDA que quantifica grupos de compostos químicos, mas não permite identificar os compostos isoladamente.

3.4 CROMATOGRAFIA

Atualmente, grande parte das pesquisas que envolvem a determinação da composição química de biomassa utiliza técnicas de cromatografia para quantificação de substâncias, como açúcares e ácidos. Num processo cromatográfico são envolvidas duas fases: a fase estacionária e a fase móvel. A amostra é introduzida na fase móvel e injetada no sistema, sendo transportada ao longo da coluna, ou seja, ao longo da fase estacionária, com o auxílio de uma bomba. Os compostos presentes na amostra interagem repetidamente com a fase móvel e a estacionária, de forma que, tendo sido escolhidas adequadamente ambas as fases, os componentes da amostra são separados em faixas, na fase móvel. Ao final do processo, os componentes separados saem da coluna em ordem crescente de interação com a fase estacionária: o componente que menos interaje sai primeiro, enquanto o componente que sofre interação mais forte sai por último. Um detector analisa o sinal de saída e, com o auxílio de um software, a intensidade do sinal de cada pico é relacionada a sua área. A Figura 10 ilustra as etapas para o funcionamento do cromatógrafo.

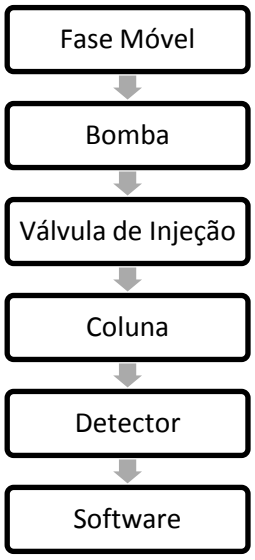


Figura 10- Esquema com as principais etapas envolvidas na técnica de cromatografia.

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), mais conhecida como HPLC, sigla do seu nome em inglês (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC), é o sistema mais usual. Sendo que para a quantificação de açúcares, utiliza-se o detector de índice de refração, enquanto para a quantificação de ácidos utiliza-se o detector UV.

Além da escolha dos equipamentos (bomba, injetor, detector), faz-se necessário o uso de uma coluna adequada e o ajuste dos parâmetros de operação: escolha do solvente utilizado como fase móvel, fluxo, volume de injeção, temperatura da coluna, tempo de análise.

Muito comum para determinação de açúcares é o uso da coluna Aminex HPX-87P, da Biorad, com água ultra pura como fase móvel, fluxo de até 1 $mL.min^{-1}$ e temperatura da coluna de 80 a 85 °C, ou a Aminex HPX-87H, com ácido sulfúrico 5mM como fase móvel, fluxo de 0,6 $mL.min^{-1}$ e temperatura da coluna de 65 °C, ou colunas e condições de operação muito próximas as citadas (LI et al., 2010; SALVI et al., 2010; SIPOS et al., 2009; SLUITER et al., 2008a; XU et al., 2010; YU et al., 2011).

Alguns pesquisadores também utilizam o sistema de cromatografia de troca iônica com detector amperométrico (HPAEC- PAD, de acordo com a sigla em inglês), sendo muito comum, nesse caso, o uso da coluna CarboPac PA1 (Dionex). No entanto, é encontrada uma certa diversidade na forma de utilização da fase móvel, normalmente uma solução de hidróxido de sódio, sugerindo que talvez essa metodologia ainda não se encontre tão consagrada quanto a análise de açúcares por CLAE, fazendo com que cada autor proponha pequenas modificação, de forma a aprimorar a técnica e/ou adequa-la a seus obetivos.

Panagiotopoulos et al. (2010), por exemplo, utilizou um gradiente de concentração de hidróxido de sódio para quantificar açúcares neutros. Para conseguir esse gradiente, utiliza-se duas bombas simultaneamente, cada uma ligada a um solvente diferente. No caso do pesquisador citado, uma bomba ligada a um recipiente com água ultra pura (solvente A) e outra bomba ligada a uma solução de NAOH (solvente B). Alterando o fluxo de cada bomba, modifica-se a proporção de mistura das duas soluções e, consequentemente, a concentração de NaOH.

Dogaris et al. (2009) utilizou NaOH 17,5 mM como eluente isocratico, com fluxo de 1 $mL.min^{-1}$, para análise de mono e di-sacarídeos. Mas utilizou um gradiente linear, com NaOH 60 mM como solvente A e NAOH 60 mM com 300 mM de acetato de sódio como solvente B para análise de xiloogiosacarídeos. Enquanto, Chen et al. (2007) utilizou duas colunas CarboPac PA100 em série e eluição isocrática de NaOH 10 mM, fluxo de 0,8 $mL.min^{-1}$, para conseguir uma boa separação de açúcares e alditois.

3.5 PROCESSOS DE CONVERSÃO

A conversão de materiais lignocelulósicos em energia e/ou combustíveis tem sido motivo de análise por diversos pesquisadores em todo o mundo (SUN E CHENG, 2002). Predominam duas linhas de pesquisa, a rota termoquímica e a bioquímica (Figura 11). Processos de gaseificação, pirólise, liquefação, torrefação e combustão fazem parte da rota termoquímica, enquanto os processos de digestão e fermentação estão relacionados a rota bioquímica de conversão (BNDES e CGEE. 2008).

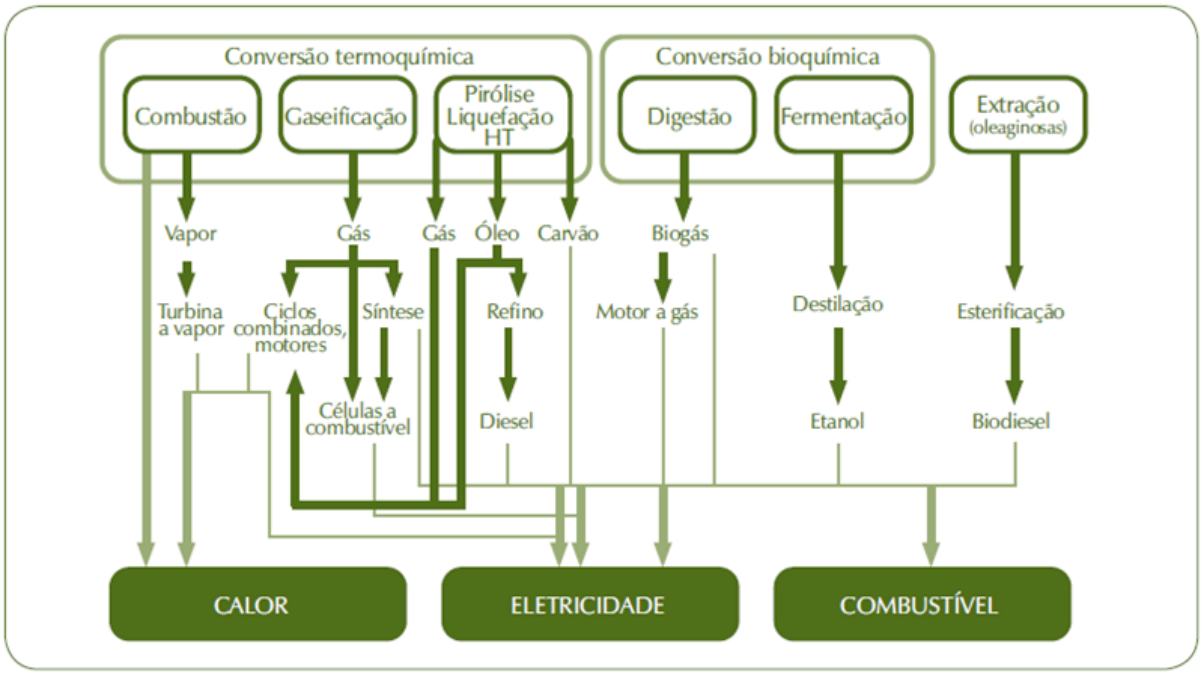


Figura 11- Rotas tecnológicas para produção de bioenergia. (Fonte: BNDES e CGEE. 2008)

Comparação do processo bioquímico com a gaseificação termoquímica para a produção de combustíveis de segunda geração foi realizado por Foust et al. (2009). Os autores concluiram que, apesar das vantagens e desvantagens de cada um, os processos possuem rendimentos muito semelhantes, além de impactos econômicos e ambientais de mesma magnitude, o que os tornam similares, sob estes pontos de vista. A escolha da rota mais favorável estaria muito mais relacionada ao tipo de biomassa utilizada, bem como o tipo de combustível desejado. No Brasil, a rota bioquímica tem sido pesquisada por diversos autores, espexcialmente com o bagaço de cana como matéria prima.

Na rota bioquímica, o processo de conversão de biomassa em etanol é realizado através de duas etapas distintas. Na primeira ocorre a hidrólise da fração celulósica do material à açúcares fermentáveis, e na segunda, a fermentação desses açúcares à etanol. A hidrólise normalmente é catalisada por enzimas (celulase) e a fermentação por leveduras. No entanto, devido à estrutura da planta ser formada pelas cadeias de celulose, hemicelulose e lignina fortemente ligadas entre si, faz-se necessário uma ou mais etapas de pré-tratamento, a fim de tornar o polímero de celulose acessível à hidrólise.

3.6 PRÉ-TRATAMENTO

O pré-tratamento tem o propósito de remover lignina e/ou hemicelulose, reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar a porosidade do material. Dessa forma, os requisitos para um bom pré-tratamento são: (1) melhoria na formação de açúcares ou na posterior habilidade de formação de açúcares do processo de hidrólise enzimática; (2) evitar degradação ou perda de carboidratos; (3) evitar a formação de co-produtos inibidores do processo subseqüente de hidrólise e/ou fermentação; (4) ser economicamente viável (SUN e CHENG, 2002). A sequência de pré-tratamento e hidrólise enzimática teoricamente possibilitaria a separação da biomassa em três frações, cada uma rica em um dos principais constituintes da biomassa: hemicelulose, celulose e lignina, possibilitando o aproveitamento total da biomassa. Estima-se que, com o desenvolvimento de novas tecnologias, a hemicelulose possa ser utilizada para fermentação de pentoses ou para obtenção de outros produtos de valor agregado, como o xilitol (por hidrogenação catalítica ou processo biotecnológico) e a lignina para produção de energia, através de sua queima. No entanto, durante o processamento do material, parte dos carboidratos é degradada, levando a formação de subprodutos, e consequentemente, à diminuição do rendimento.

3.6.1 Classificação de pré-tratamentos

Os processos de pré-tratamento podem ser classificados como físico (moagem, pirólise), físico-químico (explosão a vapor, AFEX- *ammonia fiber explosion*-, explosão com CO_2) químico (ozonização, hidrólise ácida, hidrólise alcalina, delignificação oxidativa, processo organosolv) ou biológico (SUN e CHENG, 2002). Outros autores propõem classificações semelhantes, conforme Tabela 3, que apresenta ainda uma breve descrição de cada processo, bem como seu tempo de reação e rendimento em xilose.

Tabela 3- Processos de pré-tratamento de biomassa

Tipo de Processo	Método	Descrição	Tempo de reação	Rendimento de xilose	Custo*
Físico	Explosão de vapor	A biomassa triturada é tratada com vapor (saturado, 160°-260° C) seguido de uma rápida descompressão.	1-10 min	45%-65%	-
	Termo-hidrólise	Utiliza água quente a alta pressão (pressões acima do ponto de saturação) para hidrolisar a hemicelulose.	30 min	88%-98%	-
Químico	Hidrólise ácida	Por meio do uso de ácidos sulfúrico, clorídrico, ou nítrico, concentrados ou diluídos.	2-10 min	75%-90%	+
	Hidrólise alcalina	Pelo uso de bases, como hidróxidos de sódio ou cálcio.	2 min	60%-75%	++
	Organosolv	Uma mistura de um solvente orgânico (metanol, bioetanol e acetona, por exemplo) com um catalisador ácido (H_2SO_4, HCl) é usada para quebrar as ligações internas da lignina e da hemicelulose.	40-60 min	70%-80%	
Biológicos		Utilização de fungos para solubilizar a lignina. Geralmente, é utilizado em combinação com outros processos.			
Combinados	Explosão de vapor Catalisada	Adição de H_2SO_4 (ou SO_4) ou CO_2 na explosão de vapor pode aumentar a eficiência da hidrólise enzimática, diminuir a produção de compostos inibidores e promover uma remoção mais completa da hemicelulose.	1-4 min	88%	-
	Afex (*ammonia fiber explosion*)	Exposição à amônia líquida a alta temperatura e pressão por um período de tempo, seguida de uma rápida descompressão.		50%-90%	
	Explosão de CO_2	Similar à explosão de vapor		75%	

Fonte: BNDS e CGEE (2008)- Elaborado com base em Hamelinck et al. (2005).
* O sinal + indica efeito vantajoso (menor custo).

Na escolha do processo utilizado como pré-tratamento, além do bom rendimento e baixo custo, deve-se avaliar a formação de co-produtos, que muitas vezes atuam como inibidores das etapas seguintes de hidrólise enzimática e fermentação. Na hidrólise ácida, furfural é gerado pela desidratação de pentoses (xilose e arabinose) e hidroximetilfurfural HMF pela desidratação de hexoses (glicose, no caso). Faz-se necessário, portanto, o uso de algum parâmetro que relacione as condições do processo à possibilidade de formação de inibidores.

Grau de Severidade

O efeito combinado das variáveis temperatura e tempo de reação é utilizado para medir a intensidade de um dado tratamento através do grau de severidade (log R_0) definido por (Overend e Chornet, 1989) como sendo:

$$\log (R_o) = \log \ (t \ \times e^{(\frac{T-100}{14,75})}) \qquad \text{Eq. 1}$$

Onde t é o tempo de reação em minutos e T a temperatura da reação em °C.

3.6.2 Tratamento hidrotérmico

Dogaris et al. (2009) estudaram a hidrólise hidrotérmica do bagaço de sorgo variando-se a temperatura entre 160 °C e 210 °C e o tempo de residência de 3 e 30 minutos, mantendo constante a carga de sólidos em 6,7 (m:m). A análise da formação de inibidores indicou que quanto maior o grau de severidade, maior a formação de produtos como furfural e HMF, especialmente para valores de grau de severidade acima de 4,25. Já o percentual de açúcares redutores totais liberados no pré-tratamento aparenta estabilizar-se à medida que o grau de severidade cresce. Isso levaria a crer que quanto menos severo o tratamento, melhor. No entanto, para valores abaixo de 3,5 a fração de substrato solubilizado, bem como a liberação de açúcares redutores totais é insignificante. Considerando esses aspectos, os autores definiram o ponto ótimo de operação como sendo à temperatura de 210 °C e 20 min de reação, sendo 4,54 o grau de severidade. Em tais condições, o percentual de hemicelulose residual foi de 17,45%, enquanto a formação de produtos inibidores HMF, furfural, ácido acético e ácido fórmico foi de 0,21 0,51 3,36 e 1,8 $g.L^{-1}$, respectivamente, considerados em níveis aceitáveis. O pré-tratamento resultou em melhoria de 15% na hidrólise enzimática da celulose, comparado ao bagaço não tratado, e aumentou em duas vezes o total de carboidratos hidrolisados pela ação combinada de enzimas celulases e hemicelulases.

3.6.3 Explosão a vapor

Em condições similares de temperatura (180 a 200 °C) e tempo de reação (5 a 10 minutos), Sipos et al. (2009) trabalharam com o processo de explosão a vapor como pré-tratamento e conseguiram obter solubilização de mais de 70% de hemicelulose com degradação de celulose de no máximo 6,3%, para a condição mais severa . As configurações ótimas para o processo foram, então, definidas como 190 °C por 10 min ($logR_0$ = 3,65) e 200 °C por 5 min ($logR_0$ = 3,64), nas quais, a conversão de celulose após hidrólise enzimática alcançaram, respectivamente, 89 e 92%, quando o resíduo sólido do pré-tratamento foi separado do hidrolisado e lavado antes da hidrólise enzimática, e 83 e 86%, quando as frações não foram separadas (rendimento 7% menor). Sem o pré-tratamento o resultado obtido foi de apenas 16% de conversão de celulose, mostrando o quanto é importante esta etapa.

A formação de produtos inibidores manteve-se em níveis aceitáveis: HMF (0,36 e 0,39 $g.L^{-1}$), furfural (1,0 e 0,86 $g.L^{-1}$), ácido acético (4,95 e 5,39 $g.L^{-1}$) e ácido fórmico (3,56 e 4,50 $g.L^{-1}$). Vale ressaltar que apesar de Sipos et al. (2009) utilizarem condições menos severas que a utilizada por Dogaris et al. (2009) – grau de severidade de 3,65 em vez de 4,54- a formação de produtos inibidores (HMF e furfural) foi maior, quase o dobro do valor em termos de concentração em $g.L^{-1}$. Dessa forma, observa-se claramente que o grau de severidade, apesar de ser um bom parâmetro, não é capaz de englobar todos os aspectos envolvidos no processo, não sendo possível prever com exatidão o quanto uma determinada etapa pode ser efetiva ou, ainda, quão rigorosa pode ser, ocasionando na degradação dos produtos e na formação de inibidores.

3.6.4 Hidrólise ácida

Xu et al. (2010) realizaram pré-tratamento com ácido sulfúrico diluindo em um reator de 75 mL. A carga de sólidos foi de 6,1% (m:v) e a temperatura da reação de 160 °C. Os autores avaliaram a influência daf concentração do ácido, na faixa de 0,5 a 1,5% (m/m), e observaram que o rendimento da hidrólise enzimática, etapa seguinte ao processo de pré-tratamento, aumentou de 78,9 para 94,4% à medida que a concentração de ácido aumentou de 0,5 para 1,5% (m/m). Apesar disso, os autores concluiram que 1,0% de H_2SO_4 seria o ponto ideal para o processo, porque, acima deste valor, ocorreu degradação da celulose, resultando

na diminuição do rendimento. Comparando com a composição inicial do bagaço de sorgo, mais de 90% da hemicelulose foi removida por este pre-tratamento, indicando que o ácido sulfúrico é um poderoso agente de remoção de hemicelulose, nestes níveis de concentração.

Yu et al. (2010) utilizaram H_2SO_3 em vez de H_2SO_4, em condições brandas (100 °C) e carga de sólido de 10% (m/v). A concentração de HMF e furfural formada após o pré-tratamento manteve-se abaixo de 0,4 $g.L^{-1}$. No entanto, como nesse experimento não houve etapa de remoção de ácido antes da realização de hidrólise e fermentação simultânea da biomassa (SSF), observou-se que maiores concentrações de H_2SO_3 resultaram em inibição no processo de formação de etanol, devido a sua permanência residual após o pré-tratamento. O rendimento máximo foi obtido utilizando-se concentração de H_2SO_3 de 0,25 g/g em matéria seca, a 100 °C por 120 min, representando uma melhora de 15% em relação a biomassa sem pré-tratamento.

4 METODOLOGIA

4.1 EXTRAÇÃO DE BIOMASSA DE SORGO SACARINO, EM DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DA PLANTA

Para este experimento, amostras de sorgo sacarino foram coletadas em experimento em campo, conduzido na estação experimental de Itambé, do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), localizado no município de Itambé, sendo analisadas as cultivares IPA 467, SF-15 e BR 506. As amostras foram coletadas da fileira central, de parcelas de 19,2 m² (quatro fileiras de 6 m e espaçamento de 0,80 m), com 9,6 m² de área útil, sendo utilizados quatro blocos. O plantio ocorreu em maio de 2011 e a coleta de amostras foi realizada em três períodos diferentes, de acordo com a fase de desenvolvimento da planta: pré-florescimento (fase de emborrachamento, quando a panícula começa a surgir), grão leitoso/pastoso e grão duro. Dessa forma, foram obtidas três sub-amostras para cada uma das três variedade estudadas, resultando num total de nove amostras, com quatro repetições, cada.

4.1.1 Preparação de amostras para análises

Após a coleta, os colmos do sorgo passaram por sistema de moendas (equipamentos utilizados para extrair caldo de cana) a fim de extrair o caldo. O bagaço foi, então, cortado e sem que tenha sido realizada alguma etapa de lavagem, foi seco em estufa de circulação forçada a uma temperatura de 45 °C até massa constante, segundo recomendação da norma do NREL (HAMES et al., 2008). Após a secagem, o bagaço de sorgo passou por processo de redução de dimensões em moinho de facas. O material foi moído até passar em peneira de 20 mesh (0,85 mm) e foi armazenado em sacolas plásticas para posteriores análises.

4.1.2 Extração com água e extração com etanol

O bagaço de sorgo sacarino é composto de materiais lignocelulósicos, essencialmente celulose, hemicelulose e lignina. Apesar da moagem do colmo extrair um caldo rico em açúcares, o bagaço ainda apresenta cerca quantidade de açúcares solúveis.

Existe ainda a presença de extrativos (compostos fenólicos, terpenos, alcoóis e ácidos alifáticos, como gorduras, óleos e ceras). Alguns autores realizam a lavagem do bagaço com água, antes de secar e moer a biomassa, a fim de retirar os açúcares solúveis, e em seguida, com o material já seco e moído, realiza a extração com solvente orgânico em sistema Soxhlet, para remoção dos extrativos. No presente trabalho, a lavagem do bagaço de sorgo foi realizada em sistema Soxhlet e o resíduo líquido resultante dessa etapa foi chamado de extrato aquoso. Em seguida foi realizada a extração com solvente orgânico, no caso etanol, também em sistema Soxhlet e o resíduo líquido dessa segunda etapa de extração foi chamado de extrato etanólico. O resíduo sólido resultante das duas extrações, em sequência, foi chamado de biomassa livre de extrativos, enquanto a combinação do extrato aquoso e do extrato etanólico, foi chamado simplismente de extrativos. Detalhes da metodologia de extração em sistema Soxhlet encontram-se no apêndice C, inclusive a forma de cálculo do percentual de extrativos.

Vale ressaltar que o experimento de campo originou quatro repetições de cada uma das nove amostras de sorgo, no entanto, as extrações foram realizadas utilizando duas repetições juntas no sistema Soxhlet. Dessa forma, foram mantidas as quatro repetições para a amostra de biomassa livre de extrativos, mas foram obtidas apenas duplicatas do extrativo aquoso e do extrativo etanólico.

4.1.3 *Caracterização do extrato aquoso*

O resíduo líquido proveniente da extração aquosa da biomassa de sorgo, em sistema Soxhlet, foi caracterizado por meio de análises de pH (em potenciômetro de bancada da marca Digimed), condutividade, Brix (Refratômetro portátil modelo RT-30ATC da Instrutherm com escala de 0 a 32 °BRIX) e açúcares redutores totais (ART), pelo método do ácido 3-5-dinitrossalicílico (MILLER, 1959). As análises foram conduzidas em duplicata, visto que foram obtidas duas repetições do extrativo aquoso para cada uma das nove amostra de sorgo. O extrato etanólico não foi analisado quimicamente.

4.1.4 *Análise estatística: experimento inteiramente casualizado*

Foi realizado teste de média, considerando-se experimento inteiramente casualizado com nove tratamentos (Tabela 4) e quatro repetições, com o auxílio do software Assistat.

Tabela 4- Descrição de cada amostra (tratamento) utilizada no experimento de extração de bagaço de sorgo sacarino

Tratamento	Variedade de Sorgo	Época de desenvolvimento da planta
1	IPA 467	1ª fase de colheita: Emborrachamento
2	BR 506	1ª fase de colheita: Emborrachamento
3	SF 15	1ª fase de colheita: Emborrachamento
4	IPA 467	2ª fase de colheita: Grão Leitoso / Pastoso
5	BR 506	2ª fase de colheita: Grão Leitoso / Pastoso
6	SF 15	2ª fase de colheita: Grão Leitoso / Pastoso
7	IPA 467	3ª fase de colheita: Grão Duro
8	BR 506	3ª fase de colheita: Grão Duro
9	SF 15	3ª fase de colheita: Grão Duro

Foram apresentadas tabelas com a média dos resultados para cada um dos tratamentos, bem como seus respectivos desvios padrão (calculados conforme descrito no apêndice E).

4.2 CARACTERIZAÇÃO E PRÉ-TRATAMENTO DE BAGAÇO DE SORGO SACARINO (IPA 467)

Nessa etapa, foi utilizado bagaço de sorgo sacarino da variedade IPA 467, proveniente de experimento em campo conduzido na estação experimental de Itapirema, do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), localizado no município de Goiana, no Estado de Pernambuco. A coleta da biomassa foi realizada em outubro de 2010, quando a planta já se encontrava na fase de grão maduro, e foi realizada na fileira central de parcelas de 12 m^2 (três fileiras de 5 m e espaçamento de 0,80 m), com 4 m^2 de área útil. Foi utilizada biomassa de apenas um dos blocos cultivados, sendo as repetições desse experimento independentes das repetições de campo. Com essa amostra foi realizado inicialmente a caracterização química e, em seguida, uma investigação do processo de pré-tratamento por hidrólise ácida.

4.2.1 Preparação de amostras para análises

Após coleta, os colmos do sorgo passaram por sistema de moendas (equipamentos utilizados para extrair caldo de cana) a fim de extrair o caldo. O bagaço foi cortado e lavado com água destilada levemente aquecida (cerca de 40 °C), a fim de retirar os açúcares remanescentes da extração, e seco em estufa de circulação forçada a 45 °C até massa constante, segundo recomendação da norma do NREL (HAMES et al., 2008).

Após seco, o bagaço de sorgo passou por etapa de redução de dimensões em moinho de facas. A fração do material que passou pela peneira de 20 mesh do moinho foi armazenado em sacolas plásticas para posteriores análises de composição química. A outra fração do material, retida na peneira do moinho, foi armazenada separadamente, a fim de ser utilizada na etapa de pré-tratamento por hidrólise ácida. A moagem do bagaço de sorgo foi realizada de forma que a maior parte do material, ainda não completamente moido, ficasse retido na peneira.

Em muitas pesquisas realizadas com bagaço de sorgo, utiliza-se material de granulometria muito pequena, de 0,5 a 1 mm, devido à passagem por peneiras de 32 a 16 mesh (YU et al., 2010; VÁSQUEZ et al., 2007; HERRERA et al., 2004; KIM e DAY, 2010). No entanto, essa não é a dimensão tradicionalmente encontrada em usinas de moagem de cana (JUNIOR et al., 2010) e, portanto, decidiu-se trabalhar com frações de maiores dimensões.

Outros autores também utilizam biomassa com partículas de maior dimensão, como por exemplo, Li et al. (2010) que processaram o bagaço em moinho com peneiras de 5 mm antes de realizar pré-tratamento, mesmo procedimento utilizado por Hu et al., 2010.

4.2.2 Fracionamento de partículas em peneiras

A moagem do bagaço gera um material heterogêno que, por ser fibrosos, pode apresentar uma das dimensões muito maior do que as outras duas, especialmente quando utiliza-se equipamentos que não foram otimizados para a moagem do sorgo. Ainda assim, a dispersão de dimensões da biomassa utilizada no experimento de pré-tratamento por hidrólise ácida foi analisado por fracionamento em peneiras, em um intervalo de 6 a 32 mesh (3,35 a 0,5 mm), a fim de obter um parâmetro, se não quantitativo, ao menos qualitativo a respeito da dimensão das partículas do bagaço.

A composição granulométrica caracteriza a distribuição de partículas em frações determinadas por faixas de diferentes diâmetros médios. Sabe-se que existe relação entre o tamanho das partículas e a eficiência de processos, tais como pré-tratamento. Para o bagaço obtido numa usina de cana, a granulometria do material varia de acordo com a técnica de preparação e moagem utilizada em cada indústria e do estado de conservação dos equipamentos empregados no processo, bem como das características da matéria prima utilizada (CORTEZ et al., 2008). Ainda assim, sabe-se que existe uma certa dispersão de tamanhos (JUNIOR et al., 2010). O mesmo acontece com o sorgo e, como o estudo do bagaço de sorgo traça um forte paralelo com o estudo do bagaço de cana, é importante assegurar que as condições físicas da biomassa de sorgo se assemelhem as do bagaço de cana, a fim de que comparações possam ser realizadas.

4.2.3 Caracterização química de bagaço de sorgo

A biomassa utilizada nesta etapa foi preparada conforme descrito no item 5.1.1, tendo sido seca e moída até passar em peneira de 20 mesh. A caracterização do bagaço de sorgo foi realizada de acordo com metodologia do NREL (SLUITER et al., 2008a), através da quantificação de carboidratos (celulose e hemicelulose) e lignina, da biomassa livre de

extrativos. Para a determinação de açúcares, foi utilizada cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com água ultra pura como fase móvel, fluxo de 0,6 $mL.min^{-1}$, coluna aminex 87P, a 80 °C e detector de índice de refração. A análise química envolve ainda a determinação de umidade (SLUITER et al., 2008b), cinzas (SLUITER et al., 2008c) e extrativos (SLUITER et al., 2008d), conforme descritos no apêndice. O objetivo é que o somatório dos componentes quantificados fique o mais próximo possível de 100% (SLUITER, J.; SLUITER, A., 2010).

4.2.4 Pré-tratamento- Hidrólise ácida

Uma das rotas para produção de etanol a partir de biomassa é a realização, em sequência, de etapas de pré-tratamento, hidrólise enzimática e fermentação. Nesse trabalho foi investigada a etapa de pré-tratamento do bagaço de sorgo através de hidrólise ácida, com H_2SO_4 diluído. O objetido desta etapa é facilitar o acesso das enzimas celulolíticas à fração celulósica da biomassa e a liberação de pentoses, provenientes da hemicelulose, facilitando o acesso à celulose nas etapas seguintes.

Nesse estudo, os parâmetros experimentais selecionados para avaliação foram o tempo de reação (variando de 60 a 100 min), concentração de ácido (de 0,5 a 1,5% p/v) e a carga de sólido (1:15 para 1:25 g:mL) (Tabela 5). Foi utilizada uma alíquota de 300 mL de solução ácida, variando a massa de bagaço de sorgo (12 a 20 g) para obter a carga de sólidos determinada.

Tabela 5- Parâmetros e níveis avaliados na etapa de pré-tratamento de bagaço de sorgo sacarino, variedade IPA 467

Fator	Nível mínimo (-)	Nível máximo (+)	Nível médio (0)
Tempo (min)	60	100	80
Concentração de ácido (% em volume)	0,5	1,5	1,0
Carga de sólido (g:mL)	1:25	1:15	1:20

Os experimentos foram realizados conforme planejamento fatorial 2^3 (Tabela 6), incluindo um ponto intermediário, totalizando 9 amostras, sendo o parâmetro de resposta avaliado de acordo com três pespectivas diferentes: percentual de redução de massa do bagaço de sorgo (item a), percentual de liberação de xilose (item b) e efeito do pré-tratamento na dispersão de partículas do bagaço (item c). Vale salientar que apenas para o percentual de redução de massa do bagaço de sorgo (item a) foram avaliadas todas as amostras. Para os outros parâmetros de resposta (itens b e c) foram avaliadas apenas 4 das 9 amostras do planejamento fatorial.

Tabela 6- Planejamento Fatorial 2^3 para a etapa de pré-tratamento de bagaço de sorgo sacarino, variedade IPA 467

Experimento	Tempo de reação (min)	Concentração de ácido (%)	Carga de sólido
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+
9	0	0	0

Os experimentos foram realizados em triplicata, em frascos Erlenmeyer de 500 mL, autoclavados a 121 °C, sendo contado o tempo de reação a partir do momento que a temperatura é estabilizada em 121 °C. A boca de cada frasco Erlenmeyer foi vedada com o auxílio de papel alumínio e fita crepe, a fim de impedir perda de líquido e, consequentemente, variação da carga de sólidos e da concentração de ácido utilizada. Ao fim do tempo de reação, a autoclave foi desligada e, após o resfriamento da mesma, os frascos Erlenmeyer foram retirados e submetidos a resfriamento por meio de banho-maria.

A fase líquida (licor de hidrólise) foi, então, filtrada sob vácuo, e neutralizada até pH 5-6 com carbonato de cálcio 1,5 M. O licor de hidrólise já neutralizado foi novamente filtrado, à vácuo, dessa vez em membrana de 0,20 µm, resultando em um líquido de pH neutro. O resíduo sólido, retido no papel de filtro, ainda sob vácuo, foi lavado com água destilada e depois transferido para recipientes plásticos, previamente pesados. A biomassa sólida foi deixada secar à temperatura ambiente para posterior pesagem.

(a) Percentual de solubilização de componentes da biomassa de bagaço de sorgo

Após o processo de secagem, foi realizada a pesagem do resíduo sólido lavado, sendo a diferença de massa entre cada amostra e a massa inicial o indicativo de eficiência de hidrólise pelo ácido, ou seja, o percentual de solubilização de componentes da biomassa obtido através da hidrólise ácida. Essa avaliação foi realizada para todas as nove amostras previstas no planejamento fatorial.

(b) Percentual de liberação de xilose

O licor de hidrólise, neutralizado e filtrado, foi utilizado para quantificação da xilose liberada no pré-tratamento. Essa análise foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), equipado com detector de índice de refração, coluna AMINEX HPX-87P, da Biorad, temperatura do forno de 80 °C, utilizando-se como fase móvel água milliq, e um fluxo de 0,6 $mL.min^{-1}$. A concentração de xilose encontrada no lícor é, então, comparada com a concentração máxima teórica, que seria obtida caso 100% da hemicelulose contida na biomassa antes do pré-tratamento fosse liberada para o licor. Obtem-se, então, o percentual de conversão de xilose. Essa análise não foi realizado para todas as amostras previstas no planejamento fatorial, sendo analisados apenas os experimentos 1, 2, 5 e 6 (4 amostras), conforme indicado na Tabela 7.

Tabela 7- Amostras analisadas do planejamento fatorial para o pré-tratamento de bagaço de sorgo, da variedade IPA 467, considerando o percentual de conversão de xilose como parâmetro indicativo de eficiência do processo

Experimento	Tempo de reação (min)	Concentração de ácido (%)	Carga de sólido
1*	-	-	-
2*	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5*	-	-	+
6*	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+
9	0	0	0

* amostras utilizadas para análise de conversão de xilose

Essa restrição excluiu um dos fatores do planejamento fatorial inicial, além de não considerar o nível intermediário (0). Tem-se agora um planejamento fatorial 2^2, onde os fatores analisados foram o tempo de reação (60 e 100 min) e a carga de sólido (1:15 e 1:25 g:mL), sendo fixada, além da temperatura (121 °C), a concentração de ácido (0,5%) (Tabela 8).

Tabela 8- Parâmetros e níveis analisados do planejamento fatorial para o pré-tratamento de bagaço de sorgo, da variedade IPA 467, considerando o percentual de conversão de xilose como parâmetro indicativo de eficiência do processo

Experimento	Tempo de reação (min)	Carga de sólido (g:mL)
1	60	1:25
2	100	1:25
5	60	1:15
6	100	1:15

A análise dos resultados foi realizada com o auxílio do software Minitab 1.5, onde foi construído diagrama de Pareto, a fim de identificar os fatores de maior influência sobre a eficiência do processo.

(c) Efeito do pré-tratamento na dispersão de partículas de bagaço de sorgo

A fim de avaliar se o pré-tratamento ocasionaria alguma modificação no tamanho das partículas de biomassa, foi realizado o fracionamento em peneiras antes e após o processo, em um intervalo de 6 a 32 mesh (3,35 a 0,5 mm), no bagaço de sorgo pré-tratado, de acordo com o item 5.2.2. Essa análise não foi realizado para todas as amostras previstas no planejamento fatorial, sendo analisados apenas os experimentos 1, 3, 5 e 7 (4 amostras), conforme indicado na Tabela 9.

Tabela 9- Amostras analisadas do planejamento fatorial para o pré-tratamento de bagaço de sorgo, da variedade IPA 467, considerando a dispersão de partículas na biomassa como parâmetro indicativo de eficiência do processo

Experimento	Tempo de reação (min)	Concentração de ácido (%)	Carga de sólido (g:mL)
1*	**-**	**-**	**-**
2	+	-	-
3*	**-**	**+**	**-**
4	+	+	-
5*	**-**	**-**	**+**
6	+	-	+
7*	**-**	**+**	**+**
8	+	+	+
9	0	0	0

* amostras utilizadas para análise de dispersão de partículas

Essa restrição excluiu um dos fatores do planejamento fatorial inicial, além de não considerar o nível intermediário (0). Tem-se agora um planejamento fatorial 2^2, onde os fatores analisados foram a concentração de ácido (0,5% e 1,5%) e a carga de sólido (1:15 e 1:25 g:mL), sendo fixado, além da temperatura (121 °C), o tempo de reação em 60 min. (Tabela 10).

Tabela 10- Parâmetros e níveis analisados do planejamento fatorial para o pré-tratamento de bagaço de sorgo, da variedade IPA 467, considerando a dispersão de partículas na biomassa como parâmetro indicativo de eficiência do processo

Experimento	Concentração de ácido (%)	Carga de sólido (g:mL)
1	0,5	1:25
3	1,5	1:25
5	0,5	1:15
7	1,5	1:15

4.2.5 *Análise estatística: planejamento fatorial*

As análises dessa etapa foram realizadas em triplicata, exceto para os casos de perda de amostras, especificados na apresentação dos resultados. Foram apresentadas as médias dos resultados, bem como seus respectivos desvios padrão (calculados conforme descrito no apêndice E). Para os experimentos fatoriais foram realizados testes de média com o auxílio do Software Assistat.

4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA DE PALMA FORRAGEIRA

4.3.1 Preparação de amostras para análises

Cladódios de palma miúda, com idade entre 2 e 3 anos, foram coletadas no município de Caruaru, em 07/2011, enquanto cladódios de palma gigante, com cerca de 2 anos, foram coletados no município de São Bento do Una, em 09/2011. Após a coleta, as amostras foram transportadas para o laboratório, na UFPE, onde foram cortados e picados, a fim de expor a região interna à secagem. De acordo com Sampaio (2005), as células epidérmicas da palma são recobertas por uma fina camada de ceras, a cutícula, que é praticamente impermeável à entrada ou saída de ar e líquidos. Caso os cladódios não sejam cortados de forma a expor a parte interna da palma, durante o processo de secagem, realizado em estufa de circulação forçada à 45 °C (HAMES et al., 2008), pode haver dificuldade de perda de umidade e, consequentemente, degradação do material.

Após a secagem, a biomassa foi processada em moinho de facas até passar pela peneira de 20 mesh do próprio equipamento, sendo então armazenada em sacolas plásticas para posteriores análises de composição química, que foram realizadas no Laboratório de Química de Lignocelulósicos da Escola de Engenharia de Lorena- Universidade de São Paulo (EEL-USP).

4.3.2 Extração em sistema Soxhlet

A caracterização da biomassa de palma forrageira foi realizada de forma análoga à biomassa de sorgo, de acordo com metodologia do NREL (SLUITER et al., 2008a). Foram quantificados os teores de carboidratos (celulose e hemicelulose) e lignina, de amostra preparada conforme descrito no item 5.2.1. Foram avaliadas, no entanto, diferentes formas de extração, como etapa de preparação da biomassa para a caracterização, de acordo com a Tabela 11. O resíduo líquido proveniente da extração aquosa em sistema Soxhlet foi chamado de extrato aquoso, e o resíduo líquido proveniente da extração, em sistema Soxhlet, com qualquer outro solvente foi chamado de extrato. Já a combinação de resíduos líquidos resultantes de duas ou mais etapas de extração foi chamado simplismente de extrativos.

Tabela 11- Diferentes estratégias utilizadas para a extração da biomassa de palma forrageira, em sistema Soxhlet

Solvente utilizado na extração	Tempo de extração
Água	8 h
Etanol	8 h
Água e, em seguida, etanol	Total de 14 h
Sequência de extrações: metanol/etanol, etanol e água	Total de 20 h

Vale ressaltar que como a biomassa de palma não passou por tratamento de moagem para extração de caldo ou de lavagem, espera-se grande quantidade de substâncias solúveis, distintas das normalmente obtidas no extrativo de um material lignocelulósico lavado: compostos fenólicos, terpenos, alcoóis e ácidos alifáticos, como gorduras, óleos e ceras.

4.3.3 Extração em béquer, à temperatura ambiente

Na extração aquosa da biomassa de palma através do sistema Soxhlet, a água é aquecida e o sistema de resfriamento (condensadores) não é suficiente para que a temperatura retorne à encontrada em condições ambiente, cerca de 25 °C, antes de entrar em contato com a biomassa. A fim de avaliar a influência no processo de extração, desse leve aquecimento da água, foi realizado o experimento à temperatura ambiente, apenas misturando a biomassa à água e deixando em repouso por 1 h. Foi utilizada uma proporção de 0,3 g de biomassa para 100 mL de água. Passado o período de repouso, foi realizada filtragem à vácuo, e o líquido filtrado foi analisado por cromatografia (HPAEC-PAD), para a quantificação dos açúcares.

4.3.4 Quantificação de açúcares

Tanto para amostras provenientes da hidrólise ácida (H_2SO_4 72%) da biomassa, conforme metodologia de caracterização química do NREL (SLUITER et al., 2008a), quanto para amostras líquidas provenientes da extração aquosa da biomassa, a leitura dos açúcares foi realizada por sistema de cromatografia de troca iônica de alta performance com detector amperométrico (HPAEC-PAD), utilizando-se uma coluna CarboPAC PA10 4x250 mm.

Como fase móvel, foram utilizados água ultra pura como eluente A, e uma solução 33 mM de NaOH como eluente B. Foi aplicado um gradiente da bomba, especificado na Tabela 12, para determinar a proporção de cada eluente no decorrer da análise, sendo mantido constante o fluxo de 1 $mL.min^{-1}$.

Tabela 12- Gradiente da bomba utilizada no sistema de cromatografia de troca iônica de alta performance com detector amperométrico (HPAEC-PAD)

Tempo (min)	% Eluente A (água ultra pura)	% Eluente B (NaOH 33mM)
Início	10	90
20	45	55
21	90	10
25	90	10
30	10	90
35	10	90

Os parâmetros de operação foram definidos e aprimorados com o auxílio da equipe técnica de cromatografia de íons da empresa fornecedora do equipamento (Metrohn), e de acordo com a disponibilidade de acessórios do Laboratório de Química de Lignocelulósicos (EEL-USP). No entanto, a ausência de profissionais com experiência no uso do equipamento, bem como o pouco conhecimento técnico em relação à composição química da palma forrageira, gera algumas incertezas a cerca dos resultados obtidos à partir do método empregado nesse trabalho. Dessa forma, é importanto que todo e qualquer dado obtido seja encarado como resultado preliminar, até que seja realizado um trabalho mais detalhado de validação do método utilizado e, consequentemente, seja garantida a sua confiança.

Vale ressaltar ainda que, anteriormente, houve tentativa de análisar os açúcares provenientes da palma forrageira, através do mesmo sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizado para caracterização química do sorgo sacarino, um método já bastante aceito cientificamente e recomendado por diversas normas analíticas, como por exemplo a do NREL (SLUITER et al., 2008a). Foram encontrados problemas no uso do CLAE, não tendo sido possível uma boa separação dos compostos, o que motivou o uso do HPAEC-PAD. É possível que as condições operacionais utilizadas no CLAE não tenham sido ideais ou que o mesmo não tenha sido operado corretamente, mas também é possível que a palma forrageira possuia compostos que interferam negativamente na separação dos açúcares.

5 RESULTADOS

5.1 EXTRAÇÃO DE BIOMASSA DE VARIEDADES DE SORGO SACARINO, EM DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DA PLANTA

5.1.1 *Quantificação de extrativos*

Apesar de ter sido realizada a moagem do colmo para extração do caldo, ainda resta no bagaço certa quantidade de substâncias solúveis em água e/ou solúveis em etanol. Diferentes variedades podem ter capacidade distinta de reter extrativos (combinação do extrato aquoso e do extrato etanólico), quando submetidos a um mesmo processo de moagem. Dessa forma, foi quantificado o percentual de extrativos do bagaço de sorgo de cada uma das variedades analisadas, nas três épocas de colheita estudadas. Os resultados da extração de bagaço encontram-se na Tabela 13.

Tabela 13- Percentual de extrativos (extrato aquoso + extrato etanólico) do bagaço de sorgo, das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, em três diferentes fases de colheita, e desvio padrão das análises

Variedade	1ª fase de colheita Emborrachamento	2ª fase de colheita Grão Leitoso/Pastoso	3ª fase de colheita Grão Duro
IPA 467	29 ± 4	57 ± 17	42 ± 7
BR 506	38 ± 7	36 ± 5	48 ± 9
SF 15	27 ± 3	43 ± 10	48 ± 11

Os resultados não apresentaram normalidade. Dessa forma, não foi aplicado teste de média.

Não foi observada uma clara diferença entre as variedades analisadas, nem entre as fases de colheita, sobre o percentual de extrativos (aquoso + etanólico), para as condições experimentais empregadas nesse trabalho. As variedades IPA 467 e SF 15, na 1ª fase de colheita (emborrachamento) apresentaram os menores valores brutos.

Pires et al. (2006), avaliando a qualidade da silagem de sorgo em diferentes estágios de maturação, verificou que o percentual de matéria seca aumentou durante a maturação da planta, ou seja, o percentual de caldo no colmo diminuiu. No entanto, deve-se levar em consideração que a produtividade da planta aumenta, de forma que, apesar da diminuição percentual na quantidade de caldo, observa-se aumento bruto no volume produzido. Essa

consideração também deve ser feita para a análise de extrativos do bagaço de sorgo. Além de observar os valores percentuais, é interessante correlacionar esses dados com valores de produtividade de biomassa da planta.

Ainda em relação aos dados da Tabela 13, é possível verificar que o percentual de extrativos para todos os tratamentos encontram-se acima de 25%, valores altos comparados aos obtidos por outros autores que encontraram variações ente 6 e 18% (XU et al., 2010; PANAGIOTOOOULOS et al.,2010; YU et al., 2010). No entanto, Li et al., analisando a diferença entre o bagaço de sorgo não lavado e o mesmo bagaço previamente lavado, encontrou uma redução de mais de 50% no percentual de extrativos (aquoso + etanólico) , que caiu de 32,3% para 14,5%. No presente trabalho não foi realizada uma etapa de lavagem do bagaço e a extração do caldo foi realizada em uma máquina comercial de extração de caldo de cana. O melhoramento da técnica de moagem dos colmos deve resultar em uma maior extração de caldo e, consequentemente, na diminuição da presença, no bagaço, de compostos solúveis em água. Dessa forma, o percentual de extrato aquoso diminui, reduzindo os extrativos (aquoso + etanólico).

É interessante notar que o desvio dos resultados, para a análise de extrativos do bagaço é alto, o que torna difícil verificar se existem relações entre os dados obtidos. Talvez o uso de outra técnica de determinação de extrativos, que produzisse resultados mais precisos, tornasse a análise dos resultados mais garantida.

5.1.2 Caracterização do extrato aquoso proveniente do bagaço de sorgo

Já foi observado, anteriormente, o alto percentual de extrativos (aquoso + etanólico) na biomassa analisada. Para saber a importância da fração solúvel em água, o extrato aquoso, foi necessário analisar o teor de açúcares da mesma. Dessa forma, torna-se possível até mesmo relacionar o custo no investimento de melhores sistemas de moagem, para que essa fração seja retirada junto com o caldo, com o ganho que essa melhoria representaria ao processo, em termos de maior quantidade de açúcares no caldo. A Tabela 14 contém os dados de açúcares redutores totais (ART) obtidos.

Tabela 14- Açúcares redutores totais (ART) de amostras de extrato aquoso de bagaço de sorgo (em $g.L^{-1}$), das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, em três diferentes fases de colheita, e desvio padrão das análises

Variedade	1ª fase de colheita Emborrachamento	2ª fase de colheita Grão Leitoso/Pastoso	3ª fase de colheita Grão Duro
IPA 467	19,9 ± 4,5	8,1 ± 4,7	11,1 ± 3,7
BR 506	22,3 ± 10,4	7,9 ± 3,7	12,7 ± 1,8
SF 15	19,4 ± 8,5	8,4 ± 0,5	6,4 ± 1,2

Os resultados não apresentaram normalidade. Dessa forma, não foi aplicado teste de média.

Com base na Tabela 14, pode-se observar que, para as variedades IPA 467 e BR 506, da 1ª para a 2ª fase de colheita, ocorreu uma diminuição no valor dos ART, e depois, da 2ª para a 3ª fase de colheita, ocorreu aumento desse valor. Já a variedade SF 15 apresenta comportamento diferente, diminuindo o valor dos ART tanto na 2º, quanto na 3ª fase de colheita. Dutra el al. (2011), analisando o caldo de sorgo, obteve valores de 105,9 $g.L^{-1}$, 164,8 $g.L^{-1}$ e 133,4 $g.L^{-1}$ para as variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, respectivamente. Os açúcares quantificados no extrato aquoso do bagaço de sorgo são resíduos da extração do caldo, na moagem do colmo, e, caso seja utilizado um processo de moagem mais eficiente, podem contribuir para a obtenção de um caldo de sorgo ainda mais rico em açucares.

A Tabela 15 contém os resultados para as análises de Brix, onde se observa o mesmo comportamento apresentado no caso das análises de ART.

Tabela 15- Brix de amostras de extrato aquoso de bagaço de sorgo, das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, em três diferentes fases de colheita, e desvio padrão das análises

Variedade	1ª fase de colheita Emborrachamento	2ª fase de colheita Grão Leitoso/Pastoso	3ª fase de colheita Grão Duro
IPA 467	2,3 ± 0,5	0,9 ± 0,6	2,5 ± 0,6
BR 506	2,9 ± 1,3	1,4 ± 0,2	2,1 ± 0,3
SF 15	1,2 ± 0,0	1,6 ± 0,5	1,1 ± 0,1

Os resultados não apresentaram normalidade. Dessa forma, não foi aplicado teste de média.

As variedades IPA 467 e BR 506, da 1ª para a 2ª fase de colheita, apresentam diminuição no valor do brix, e depois, da 2ª para a 3ª fase de colheita, aumento desse valor. Já a variedade SF 15 apresenta o comportamento oposto. Dutra et al. (2011), trabalhando com o caldo das mesmas variedades, observaram que a variedade BR 506 é a que apresenta maior concentração de açúcares, enquanto a SF 15 e a IPA 467 apresentaram caldo com menor concentração de açúcares. No entanto, esse parâmetro não é suficiente para afirmar que a

variedade BR 506 produz mais açúcar que as outras, pois a quantidade bruta de açúcar depende ainda da produção de biomassa da planta e do percentual de caldo extraído.

Teixeira et al. (1999), estudando a influência da época de corte sobre o teor de açúcares no colmo de sorgo sacarino, observaram que os teores de açúcares totais e de sacarose aumentam, continuamente, desde o início da floração até atingir o estágio de maturidade fisiológica, sendo que o nível de açúcares redutores apresenta comportamento inverso, possivelmente devido a sua assimilação na forma de outros compostos. No presente trabalho, os valores de ART obtidos também são maiores no início. Seria interessante, portanto, verificar se esse comportamento se repete para o caldo das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15 ou se as variações encontradas nesse trabalho são fruto de flutuações na eficiência de extração do caldo.

A Tabela 16 apresenta os valores de pH obtidos para as extrações aquosas de bagaço.

Tabela 16- pH de amostras de extrato aquoso do bagaço de sorgo, das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, em três diferentes fases de colheita, e desvio padrão das análises

Variedade	1ª fase de colheita Emborrachamento	2ª fase de colheita Grão Leitoso/Pastoso	3ª fase de colheita Grão Duro
IPA 467	4,82 ± 0,02	3,9 ± 0,1	4,0 ± 0,4
BR 506	5,6 ± 1,0	5,05 ± 0,02	4,04 ± 0,01
SF 15	5,4 ± 1,1	4,1 ± 0,1	4,1 ± 0,3

Os resultados não apresentaram normalidade. Dessa forma, não foi aplicado teste de média.

Na 1ª fase de colheita (emborrachamento), foram obtidos valores de pH próximo ou acima de 5 (4,8 a 6,5), semelhante ao encontrado por Dutra et al. (2011) para o caldo dessas mesmas variedades (pH variando de 5,1 a 5,4) e considerado apropriado para fermentação com leveduras (pH 5,0-6,5). No entanto, nas demais fases de desenvolvimento da planta estudadas, observou-se uma diminuição nos valores de pH, que passaram para uma faixa de 3,9 a 5,0, indicando talvez o aumento de substâncias ácidas provenientes do metabolismo da planta ou, simplesmente, devido a ação de micro-organismos contaminantes, que resultam na produção de ácidos orgânicos.

Foi avaliada também, a condutividade dos extrativos (Tabela 17). Não foi possível, no entanto, estabelecer alguma relação entre a variação de condutividade com outras variáveis, como brix e pH, nem mesmo verificar alguma tendência de comportamento entre as variedade ou entre as fases de colheita estudadas.

Tabela 17- Condutividade ($mS.cm^{-1}$) de amostras de extrato aquoso de bagaço de sorgo, das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, em três diferentes fases de colheita, e desvio padrão das análises

Variedade	1ª fase de colheita Emborrachamento	2ª fase de colheita Grão Leitoso/Pastoso	3ª fase de colheita Grão Duro
IPA 467	2,74 ± 0,03	1,0 ± 0,5	2,1 ± 0,4
BR 506	5,2 ± 2,2	3,0 ± 0,6	1,9 ± 0,2
SF 15	2,1 ± 0,2	1,7 ± 0,2	0,87 ± 0,04

Os resultados não apresentaram normalidade. Dessa forma, não foi aplicado teste de média.

Os açúcares presentes na solução não são capazes de se dissociar na água para produzir corrente. Outras substâncias iônicas (como sais, ácidos e hidróxidos) ou moleculares (ácidos inorgânicos, amônia, ácidos orgânicos, fenóis e aminas) são capazes de se ionizar em água. Os valores de condutividade encontrados variaram na faixa de 0,8 a 5,2 $mS.cm^{-1}$ (ou 800 a 5200 $\mu S.cm^{-1}$) enquanto a água destilada, por exemplo, apresenta condutividade variando de 0,05 a 0,3 $mS.cm^{-1}$ (50 a 300 $\mu S.cm^{-1}$), mostrando uma forte presença de substâncias ionizáveis.

5.2 CARACTERIZAÇÃO E PRÉ-TRATAMENTO DE BAGAÇO DE SORGO SACARINO (IPA 467)

Nesse experimento, foi obtida produtividade média de 15,5 $t.ha^{-1}$, em matéria seca (MS). Esse valor está um pouco abaixo do encontrado em outros trabalhos, mas, levando-se em consideração as condições de cultivo, especialmente o fato de ser uma rebrota, trata-se de uma produtividade regular. Gomes et al. (2006), citado por Tabosa et al. (2010), encontraram produtividade de 35 $t.ha^{-1}$, enquanto Lima et al. (2010) relatam valores de 30,3 $t.ha^{-1}$ para esta mesma variedade de sorgo. Segundo Tabosa et al. (2010), em condições de sequeiro, existe uma boa adaptação da cultura aos mais diversos ambientes analisados pelos pesquisadores, sendo a produtividade em massa seca de até 20 $t.ha^{-1}$.

5.2.1 Fracionamento de partículas em peneira

Através da análise de dimensões do bagaço de sorgo, foi possível verificar que a maior parte da biomassa utilizada nesse experimento (aproximadamente 80%) encontra-se na faixa de 0,7 a 2,8 mm (Figura 12).

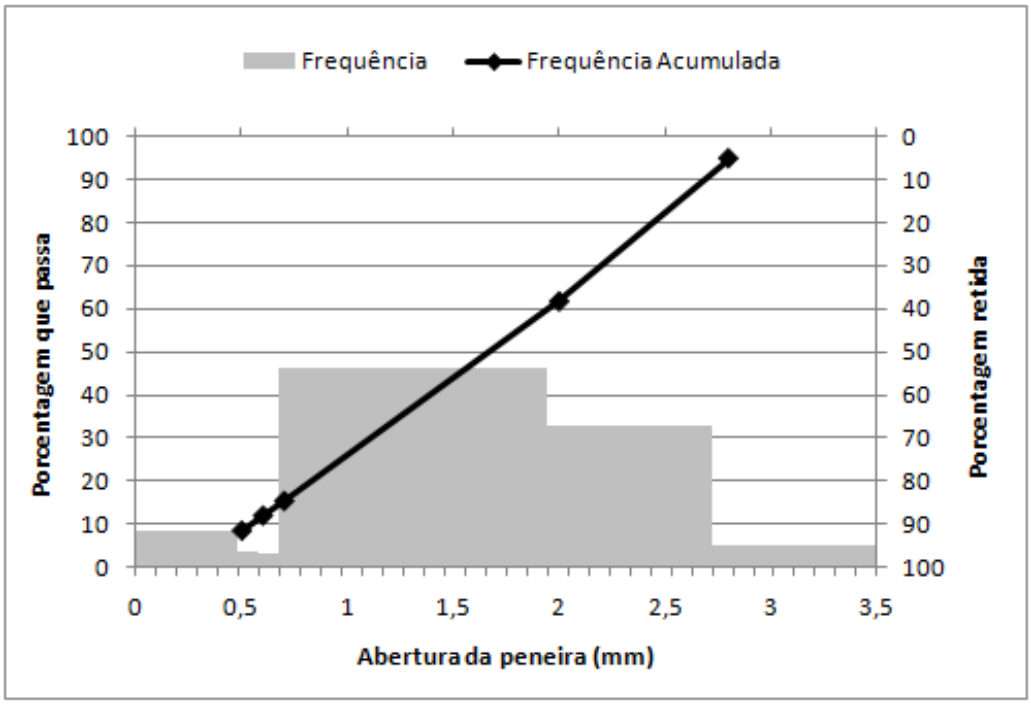


Figura 12- Fracionamento de bagaço de sorgo sacarino, variedade IPA 467, em peneiras de diferentes granulometria.

Deve-se lembrar, entretanto, que por se tratar de uma biomassa fibrosa, o experimento indica apenas de forma quantitativa a dispersão do material. Especialmente para as frações de maior dimensão, as partículas de biomassa apresentam comprimento da ordem de centímetros, apesar de passarem por peneiras com abertura de apenas alguns milímetros (Figura 13).

Figura 13- Bagaço de sorgo sacarino utilizado na etapa de pré-tratamento com ácido diluído, fracionado de acordo com o tamanho de suas partículas.

5.2.2 Composição química do bagaço de sorgo sacarino

Os teores de celulose, hemicelulose e lignina obtidos na caracterização química do bagaço de sorgo encontram-se na Tabela 18. Como o bagaço havia sido lavado, o percentual de extrativos foi relativamente baixo, aproximando-se dos valores obtidos por Li et al. (2010), Panagiotopoulos et al. (2010) e Yu et al. (2010), que variaram de 6 a 15%. No trabalho desses autores o balanço de massa obtido foi de 92 e 95%, sendo o percentual de celulose relatado (entre 38 e 45%) o que mais diferiu dos valores encontrados nessa pesquisa, visto que o teor de lignina e de hemicelulose ficaram dentro da faixa obtida pelos outros pesquisadores.

Tabela 18- Composição química do bagaço de sorgo, da variedade IPA 467, cultivado no município de Goiana, estado de Pernambuco, nordeste do Brasil, no ano de 2011

Componente	(%)
Extrativos	10,0
Celulose	33,8
Hemicelulose	23,2
Lignina Insolúvel	18,6
Cinzas	1,4
Somatório	**87,0**

Trata-se de valores semelhantes aos encontrados para outras variedades de sorgo, na faixa de 32 a 46% de celulose, 20 a 28% de hemicelulose, e a lignina entre 10 e 22% (XU et al.;PANAGIOTOPOULOS et al.; YU et al.; SALVI et al.; KIM e DAY; ZHANG et al, 2010; LI et al., 2010, BELAYACHI e DEMAS, 1995; VÁSQUEZ et al., 2007; HERRERA et al., 2004). Dessa forma, não foram encontradas diferenças significativas, em termo de composição de carboidratos, entre esta variedade de sorgo e outras tradicionalmente pesquisadas.

5.2.3 Pré-tratamento- Hidrólise ácida

A seguir, são apresentados os resultados do pré-tratamento de acordo com as três pespectivas trabalhadas: percentual de redução de massa do bagaço de sorgo (item a), percentual de liberação de xilose (item b) e efeito do pré-tratamento na dispersão de partículas do bagaço (item c).

(a) Percentual de solubilização de componentes da biomassa de bagaço de sorgo

Na Tabela 19 encontram-se os resultados para as 9 amostras provenientes do experimento fatorial. Aplicando teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, foi constatado que todos os fatores apresentam significância, no entanto, a interação dos fatores não foi significativa. Portanto, aumentando a concentração de ácido e o tempo de reação, aos níveis analisados, foi obtido maior rendimento do processo. Comportamento oposto é observado para a carga de sólidos que, ao ser aumentada, diminui o percentual de redução de massa decorrendo do pré-tratamento.

Tabela 19- Percentual de redução de massa de bagaço de sorgo sacarino, da variedade IPA 467, após pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído, a 121°C, de acordo com planejamento fatorial 2^3

Experimento	Tempo de reação (min)	Concentração de ácido (%)	Carga de sólido (g:mL)	Redução de massa (%)
1	-	-	-	24,0 ± 0,1
2	+	-	-	35,1 ± 0,8
3	-	+	-	8,3 ± 0,3
4	+	+	-	38,1 ± 0,2
5	-	-	+	20,6 ± 1,9
6	+	-	+	33,1 ± 0,7
7	-	+	+	6,7 ± 2,7
8	+	+	+	38,5 ± 1,5
9	0	0	0	14,2 ± 0,1

(b) Percentual de liberação de xilose

Através dos experimentos de hidrólise com ácido sulfúrico a 0,5% (v:v) e temperatura de 121 °C, obteve-se a concentração média de xilose, liberada pelo tratamento, variando de 5 a 10 $g.L^{-1}$. No entanto, esse valor é referente a experimentos com massa de bagaço diferente, devido à variação na carga de sólidos. A fim de obter um parâmetro que, de fato, represente a capacidade de liberação de xilose, que seja independente da quantidade de biomassa, dividiu-se a concentração encontrada pela massa de bagaço de sorgo utilizado em cada experimento. A Tabela 20 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 20- Concentração de xilose encontrada no licor proveniente do pré-tratamento ácido de bagaço de sorgo sacarino, da variedade IPA 467, realizado a 121°C, de acordo com planejamento fatorial 2^3

Experimento	Tempo de reação (min)	Carga de sólido (g:mL)	Concentração de Xilose ($g.L^{-1}.g_{biomassa}^{-1}$)				
			A	**B**	**C**	**MÉDIA**	**Desvio**
1	60	1:25	0,557	0,480	0,532	0,52	0,04
2	100	1:25	0,528	0,591	0,585	0,57	0,04
3	60	1:15	0,558	0,538	0,504	0,53	0,03
4	100	1:15	0,605	0,605	0,585	0,60	0,01

Vargas Betancur e Pereira Junior (2010) em seus estudos de otimização do pré-tratamento de cana-de-açúcar com ácido sulfúrico diluído- 1,09% (v/v)- obtiveram

concentração de 50 $g.L^{-1}$ de xilose, para uma carga de sólidos de 1:2,8 (g:mL) e um tempo de reação de 27 min, a 121 °C. É de se esperar que, até certo ponto, quanto mais biomassa utilizada em um mesmo volume, maior a concentração de xilose liberada. Vale ressaltar que, para trabalhar com altas cargas de sólidos é preciso o uso de reatores especiais, que disponham de um bom sistema de agitação, para manter a carga homogênea.

Além disso, como o experimento de Vargas Betancur e Pereira Junior (2010) foi realizado com alta carga de sólidos, a concentração obtida foi alta, mas para ser comparada com o presente trabalho, é preciso dividir pela massa utilizada, a fim de obter um parâmetro comum a ambos os experimentos. Realizando essa operação, foi obtido resultado de 0,47 $g.L^{-1}.g_{biomassa}^{-1}$, um resultado satisfatório, próximo ao obtido neste trabalho (0,52 a 0,60 $g.L^{-1}.g_{biomassa}^{-1}$).

Analisando os valores segundo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, constatou-se que os resultados não diferem estatisticamente. Ainda assim, foram calculados os percentuais de conversão de xilose, ou seja, quanto de xilose o pré-tratamento conseguiu retirar do polímero de hemicelulose e liberar para o licor de hidrólise. Como na caracterização química do bagaço de sorgo, para obter o teor de hemicelulose, realiza-se uma hidrólise ácida da biomassa, para liberar os constituintes da biomassa e, em seguida, a quantificação dos açúcares, já foi encontrado que o valor inicial de xilose corresponde a 26,4%. Para obter o teor de hemicelulose de 23,2% indicado na Tabela 18, basta aplicar o fator de conversão 0,88, conforme descrito no apêndice D.

Tabela 21- Percentual de conversão de xilose obtido através do pré-tratamento ácido do bagaço de sorgo sacarino, da variedade IPA 467, a 121 °C, de acordo com planejamento fatorial 2^3

Experimento	Tempo de reação (min)	Carga de sólido (g:mL)	Conversão de Xilose (%)	
			MÉDIA	**Desvio**
1	60	1:25	57,2	4,3
2	100	1:25	62,1	3,8
3	60	1:15	58,3	3,0
4	100	1:15	65,4	1,2

O rendimento encontrado nesse experimento variou entre 57% e 66%. Herrera et al. (2004) determinaram como ponto ótimo de seus experimentos, com ácido clorídrico a 6%, o tempo de reação de 83 min a uma temperatura de 100 °C. Nessas condições a concentração

de xilose seria de 21,3 $g.L^{-1}$, resultando em rendimento de 95%. Segundo os autores, a temperaturas mais altas, de 121 °C, e com tempo de reação de 70 minutos, esse rendimento cai para 72%, um valor mais próximo ao encontrado neste experimento.

A Figura 14 mostra o Diagrama de Pareto, obtido com o auxílio do software Minitab 1.5, que avalia o efeito dos fatores estudados (tempo de reação e carga de sólidos), bem como da interação dos fatores, na eficiência de liberação de xilose obtida através do pré-tratamento.

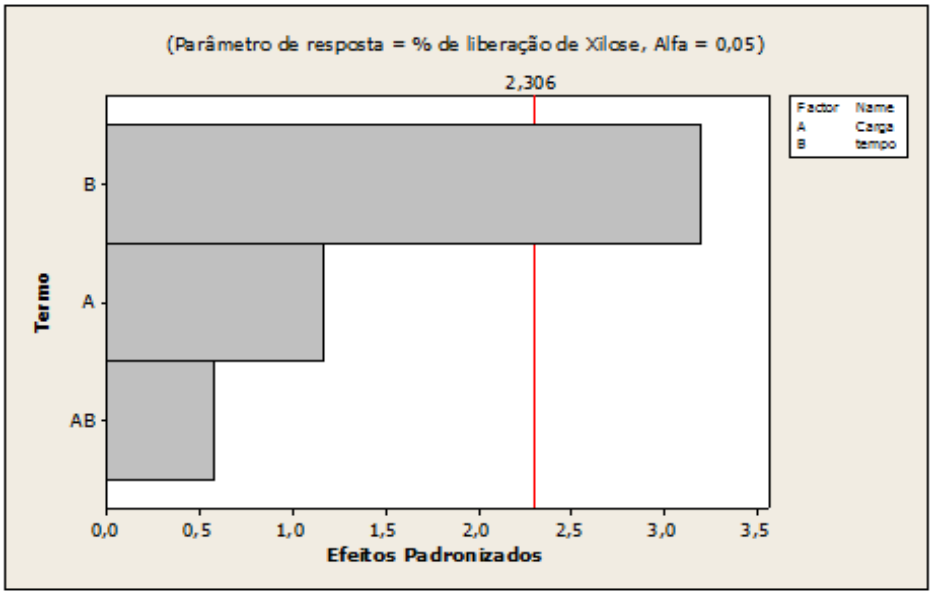


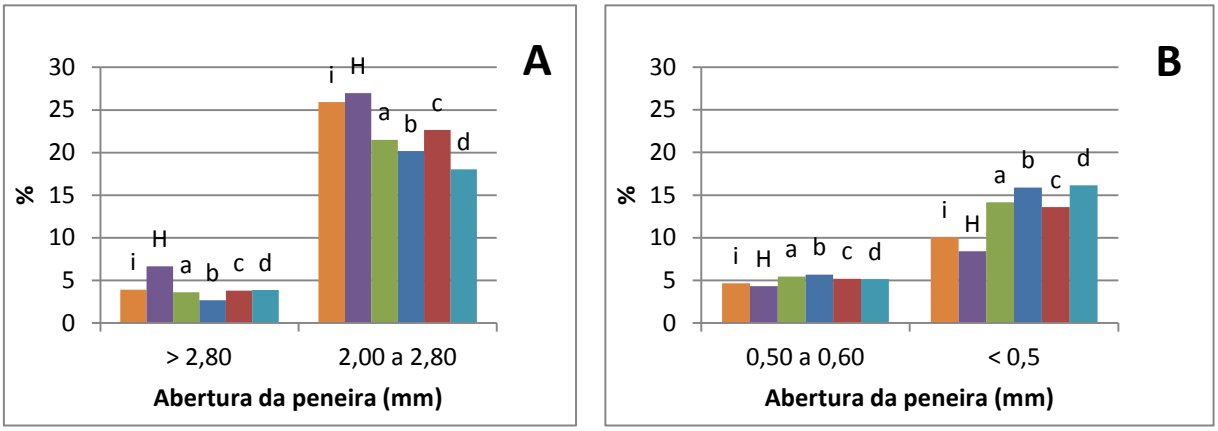
Figura 14- Diagrama de Pareto para avaliação do efeito do tempo e da carga de sólidos sob o percentual de liberação de xilose obtido através do pré-tratamento do bagaço de sorgo sacarino.

O Diagrama de Pareto indica que, nas condições experimentais verificadas, o tempo de reação foi o único fator que apresentou efeito significativo sobre o resultado final do experimento. Tanto a carga de sólidos, quanto a interação de ambos os fatores, não se revelaram como parâmetro significante.

(c) Efeito do pré-tratamento na dispersão de partículas de bagaço de sorgo

Além da biomassa submetida ao tratamento ácido, foram avaliadas amostras que receberam apenas água, ao invés de ácido, antes de ir para autoclave, sendo classificadas como o branco do experimento. Através desse ensaio, foi possível verificar que, ao realizar a reação adicionando apenas água ocorre aumento de diâmetro das partículas, pois o percentual

de biomassa com diâmetro maior cresce, enquanto o percentual de partículas com diâmetro menor diminui (Figura 15).

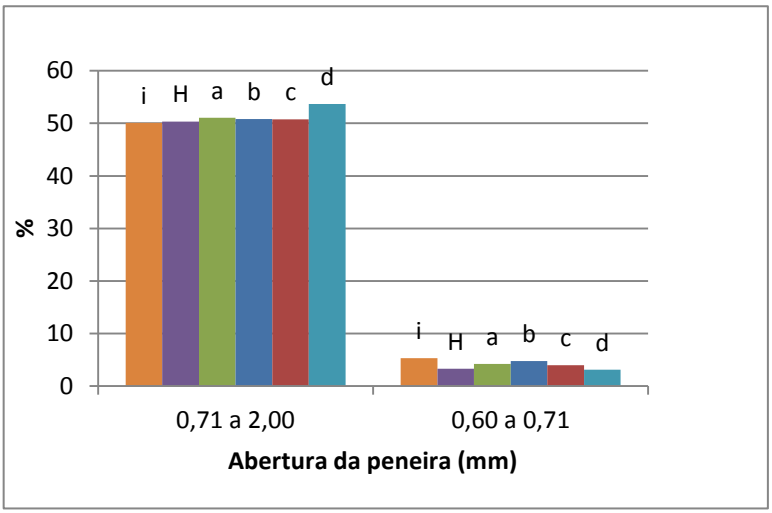


i= dispersão da amostra inicial; H= dispersão em amostra tratada apenas com apenas água; a, b, c, d= dispersão em amostras pré-tratadas com ácido sob diferentes condições

Figura 15- Dispersão de partículas de bagaço de sorgo para frações de: (A) Diâmetro maior; (B) Diâmetro menor.

Para as reações que ocorrem na presença de ácido foi observado comportamento inverso, ocorrendo leve redução de diâmetro das partículas, pois o percentual de biomassa com diâmetro maior diminui, enquanto o percentual de partículas com diâmetro menor aumenta (Figura 15). Essa redução, no entanto, não passa de 11% (7,2 a 11,8%) em relação ao branco e de 8% em relação à amostra inicial (3,3 a 7,9%).

As partículas na faixa de 0,7 a 2 mm, que representam cerca de 50% da biomassa total, praticamente não apresentam variação de granulometria (Figura 16).



i= dispersão da amostra inicial; H= dispersão em amostra tratada apenas com apenas água; a, b, c, d= dispersão em amostrar pré-tratadas com ácido sob diferentes condições

Figura 16- Dispersão de partículas de bagaço de sorgo para frações de diâmetro intermediário.

5.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE PALMA FORRAGEIRA

5.3.1 Extração da biomassa de palma forrageira

Os resultados obtidos para a avaliação de diferentes estratégias de extração da biomassa de palma encontram-se na Tabela 22.

Tabela 22- Percentual médio de extrativos obtidos pela extração de biomassa de palma forrageira em sistema Soxhlet e seus respectivos desvios padrão

Tipo de Extração	Palma Miúda	Palma Gigante
Água	27,9 ± 1,3	38,8 ± 0,9
Etanol	12,7 ± 1,6	19,6 ± 0,5
Sequência: 1- Água; 2- Etanol	27,3 ± 1,8	42,3 ± 0,9
Sequência: 1-Metanol/etanol; 2- Etanol; 3- Agua	22,3 ± 9,4	44,0 ± 0,6

Observa-se que a extração apenas com etanol foi a que removeu menor quantidade de compostos em relação às demais técnicas, que utilizavam a água como solvente, em pelo menos uma das etapas. Estudos anteriores, relatado por Menezes et al. (2011), apontam para grande presença de açúcares na biomassa de palma (39,9% para a palma gigante e 52% para a palma miúda), de forma que era esperado que a extração com água fosse capaz de solubilizar uma grande quantidade dessas substâncias, visto que a amostra não passou por nenhuma etapa de lavagem prévia.

Para a palma gigante é possível verificar, ainda, que quanto mais etapas de extrações utilizadas, maior a quantidade de extrativos. Esse comportamento não foi observado para a amostra de palma miúda, no entanto, o alto desvio dos resultados dificultou a análise. De qualquer forma, fica clara a importância da extração com água na caracterização da palma, pois se essa grande quantidade de solúveis não for removida da biomassa pode interferir em etapas posteriores da análise química, levando a um resultado errôneo.

Uma possibilidade a ser testada seria a moagem da palma forrageira, para remoção da fração líquida, seguida de uma etapa de lavagem, para remover os resíduos solúveis remanescentes da moagem, de forma análoga ao que é realizado com os colmos de cana-de-açúcar, no processo de produção de etanol. Possivelmente, a presença de substâncias viscosas na palma forrageira (mucilagens e/ou pectina) exigiria alterações nas técnicas de moagem e lavagem, sendo interessante testar o uso de equipamentos provenientes do processamento de determinados tipos de frutas, que também possuem alta concentração de pectina.

É possível observar, ainda, a partir da Tabela 22, que o percentual de extrativos obtidos para a palma miúda, independente da técnica empregada, está bem abaixo dos valores encontrados para a palma gigante, indicando a forte diferença de composição entre as variedades estudadas. Ou seja, independente de quais sejam as substâncias encontradas nas frações extraídas da palma, estão presentes em maior quantidade na biomassa da variedade de palma gigante do que na de palma miúda.

Uma observação importante durante a realização dessas análises foi que o resíduo sólido das amostras que passaram pela extração aquosa, ao contrário das que foram extraídas apenas com etanol, adquiriu consistência bastante sólida, sendo necessário, inclusive, acrescentar uma etapa de moagem até passar novamente por peneira de 20 mesh, retomando assim a condição inicial. Ou seja, em contato com a água, a biomassa de palma forrageira adquire consistência gelatinosa, o que não acontece quando em contato com etanol. Como essas substâncias com características mais viscosas não conseguiram atravessar o papel de filtro, usado para reter a biomassa, permaneceram agregadas ao resíduo sólido. E, ao secar, conferiram ao resíduo sólido uma consistência bastante endurecida, indicando ter propriedades aglomerantes, aglutinantes ou ligantes, tal qual o cimento.

Seria interessante que tais substâncias (possivelmente mucilagens ou pectina) pudessem ser separadas da fração insolúvel, utilizando para isso alguma metodologia de extração em que a biomassa não ficasse envolvida em papel de filtro, ou solubilizando-as completamente, para que pudessem passar pelo papel de filtro.

5.3.2 Análise do extrato aquoso

As amostras provenientes de extração aquosa foram analisadas por cromatografia iônica, para quantificação de açúcares. No entanto, foram encontrados problemas com o sistema de cromatografia que tornaram os resultados obtidos inconsistentes, do ponto de vista quantitativo. Para explicar um pouco o problema obtido, serão mostrados alguns cromatogramas obtidos. A Figura 17 mostra o cromatograma da primeira leitura realizada pelo equipamento, logo após a estabilização do sistema.

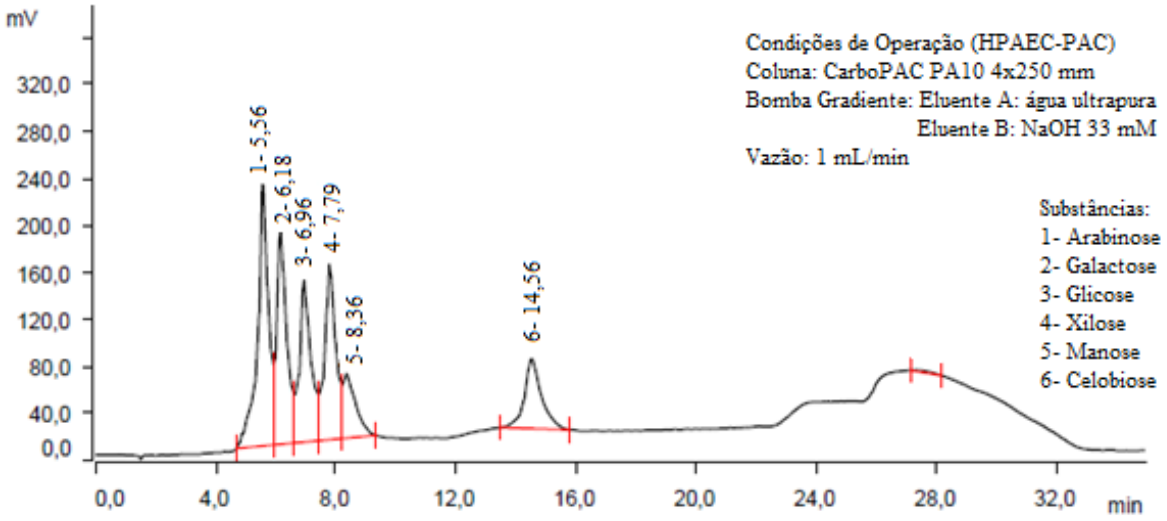


Figura 17- Cromatograma da primeira leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de solução padrão contendo seis açúcares em concentrações conhecidas, $C_1 \approx 50$ ppm.

A Figura 17 representa a leitura do padrão, contendo seis açúcares (glicose, xilose, arabinose, galactose, manose e celobiose) em concentrações conhecidas, C1, de aproximadamente 50 ppm. Anteriormente já haviam sido injetadas amostras padrões contendo apenas um açúcar, para que pudesse ser determinado o tempo de retenção de cada um dos açúcares analisados. A curva ao final do cromatograma não representa pico de substâncias. Na verdade a linha de base nesse sistema não é uma reta porque foi utilizado um sistemas de duas bombas operando com um gradiente de concentração. Nas condições operacionais empregadas, apesar de identificar os seis picos, correspondentes aos seis açúcares injetados, é possível verificar certa sobreposição de substâncias, pois um pico surge antes mesmo que o pico que saiu imediatamente antes retorne à linha de base. Conforme explicado na

metodologia, o erro associado a esse método seria avaliado futuramente, em etapa de validação do método, e por isso foi dado sequência às análises, para obtenção de resultados parciais.

No entanto, apesar de ter conseguido a estabilização do sistema em testes realizados previamente, no momento da leitura de algumas amostras foi observado que ocorreu variação no tempo de retenção das substâncias. A Figura 18 mostra o cromatograma da segunda leitura realizada pelo equipamento, logo após a estabilização do sistema, o padrão contendo seis açúcares em concentrações conhecidas, C_2, de aproximadamente 25 ppm.

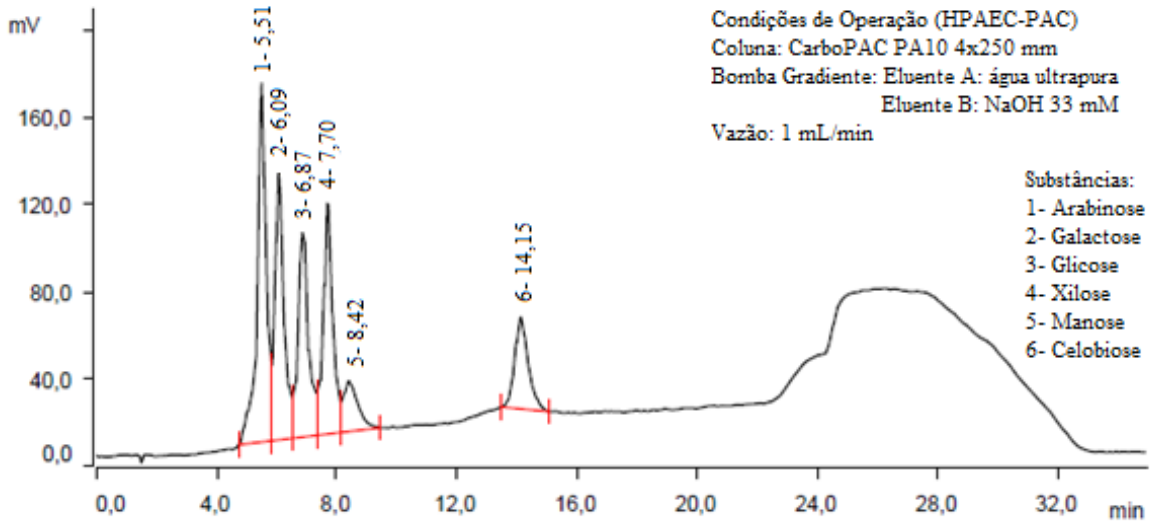


Figura 18- Cromatograma da segunda leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de solução padrão contendo seis açúcares em concentrações conhecidas, $C_2 \approx$ 25 ppm.

Na primeira leitura (Figura 17) o tempo de retenção da última substância 6, por exemplo, foi de 14,56 min, enquanto na segunda leitura (Figura 18) caiu para 14,15 min. Esse comportamento repetiu-se leitura após leitura, tornando-se ainda mais evidente ao avaliar o tempo de retenção dessa mesma substância após a leitura de mais 10 amostras (Figura 19).

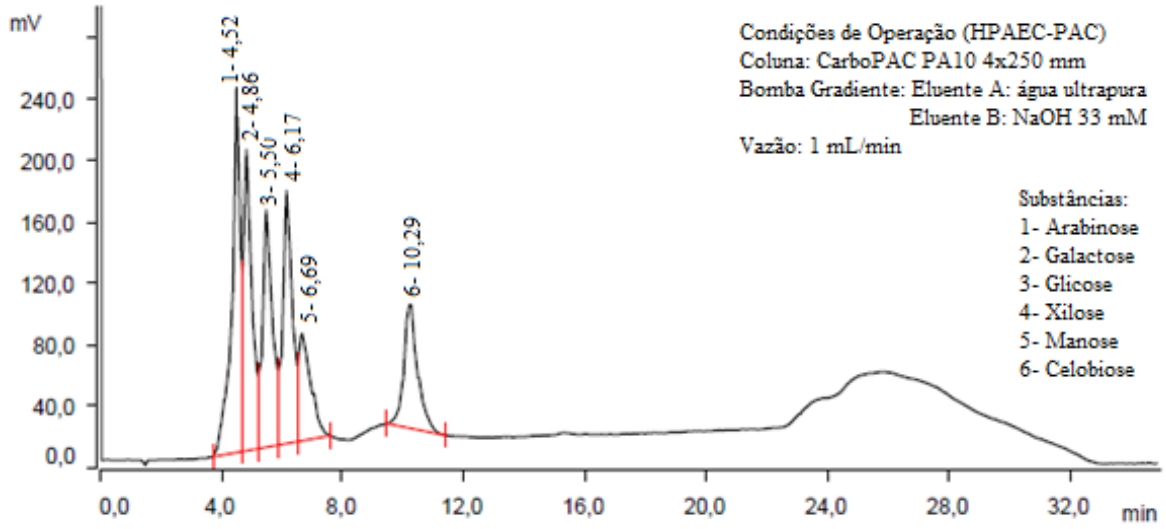


Figura 19- Cromatograma da 13ª leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de solução padrão contendo seis açúcares em concentrações conhecidas, $C_1 \approx 50$ ppm.

O parâmetro iniciou em 14,56 min, caiu para 14,15 min e chegou a 10,29 min. Observa-se, na Figura 19, que essa modificação ocasiona em perda de eficiência na separação das substâncias, ou seja, dois picos adjacentes passam a sair juntos, ou muito próximos, alterando a área medida de cada um deles. Dessa forma, torna-se impossível calibrar o sistema e, consequentemente, quantificar as substâncias. Até mesmo a identificação dos compostos é prejudicada, pois o tempo de retenção é um dos parâmetros para determinar a que substância está relacionado cada pico. Um dos fatores apontados para a ocorrência dessa falha foi a ocorrência de problemas com o eluente. Foi utilizado NaOH 33 mM que, especialmente em baixas concentrações, absorve dióxido de carbono e forma carbonato, de acordo com o sistema de reações apresentado a seguir, que influencia negativamente na separação dos açúcares:

$$H_2O + CO_2 \rightarrow H_2CO_3$$

$$2NaOH + H_2CO_3 \rightarrow Na_2CO_3 + 2\ H_2O$$

$$2NaOH + CO2 \rightarrow Na_2CO_3 + H2O$$

Uma solução para este problema seria adquirir, e acoplar ao cromatógrafo, um sistema degaseificador da amostra e do eluente e/ou verificar se a compra de novo reagente NaOH resolveria o problema. Não é utilizado NaOH na forma de pelotas justamente por serem

revestidas por uma camada de carbonato, mas é possível que a solução de NaOH (50% m:m) tenha sido inadvertidamente agitada, provocando a introdução de dióxido de carbono e modificando as propriedades da solução. Outra opção seria estudar outras condições de operação do cromatógrafo, que pudessem utilizar solução mais concentrada de NaOH, visto que os cuidados tomados para evitar a formação de carbonatos não foram eficazes.

É interessante notar que, apesar do problema ocorrido ter comprometido a quantificação dos açúcares, foi possível obter informações qualitativas a respeito da presença de açúcares nas amostras analisadas. A Figura 20 mostra o cromatograma do extrato aquoso (obtido através do sistema Soxhlet) de amostra de palma miúda.

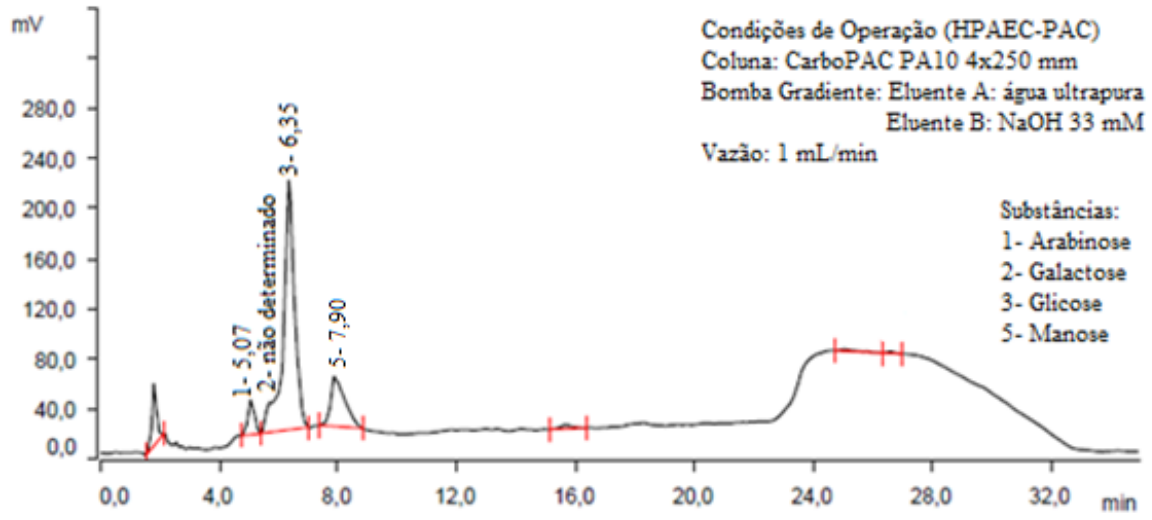


Figura 20- Cromatograma da 5ª leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de extrato aquoso de palma miúda, obtido em sistema Soxhlet.

Comparando a análise do extrativo de palma miúda com o cromatograma de amostra padrão, e levando em consideração que a cada leitura o tempo de residência das substâncias sofre redução, é possível identificar a presença de açúcares, apesar de não ser possível sua quantificação. Foi encontrado, no extrativo, a presença principalmente de glicose, além de arabinose, galactose e manose, em menores quantidades.

O resultado para o extrato aquoso, obtido através do sistema Soxhlet, da palma gigante (Figura 21) foi semelhante ao encontrado para a variedade de palma miúda, indicando a presença dos mesmos açúcares: glicose, arabinose, galactose e manose.

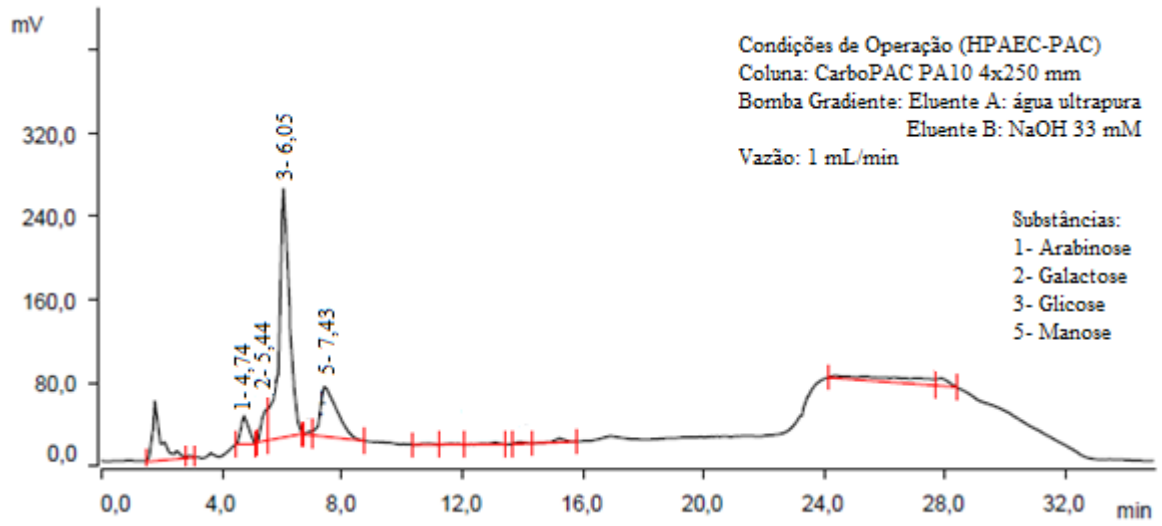


Figura 21- Cromatograma da 6ª leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de extrato aquoso de palma gigante, obtido em sistema Soxhlet.

Chen et al. (2007), analisaram a fração de palha de milho solúvel em água com um sistema de cromatografia de troca iônica semelhante ao utilizado no presente trabalho. Os autores relataram a presença de glicose e frutose como principais constituintes (representando de 30 a 46% dos extrativos), além de vários alditois (3-7%), ácidos alifáticos (7-21%), íons inorgânicos (10-18%), açúcares oligoméricos (4-12%), e uma distribuição de oligômeros, identificados como possivelmente derivados de glicosídeos fenólicos (10-18%). Não relataram, no entanto, a presença de manose e galactose. Seria interessante verificar se o HPAEC-PAC utilizado nessa pesquisa, adaptado às condições utilizadas por Chen et al. (2007), como, por exemplo, o uso de duas colunas em série, seria capaz obter melhores resultados.

5.3.3 Extração em béquer, à temperatura ambiente

A leitura da fração líquida, obtida a partir do experimento de extração aquosa em béquer, sofreu o mesmo problema apresentado para a análise do extrato aquoso obtido através do sistema Soxhlet. O cromatograma apresentado na Figura 22 apresenta o resultado obtido para análise dos açúcares solúveis da palma miúda, obtidos a temperatura ambiente, por extração aquosa em béquer.

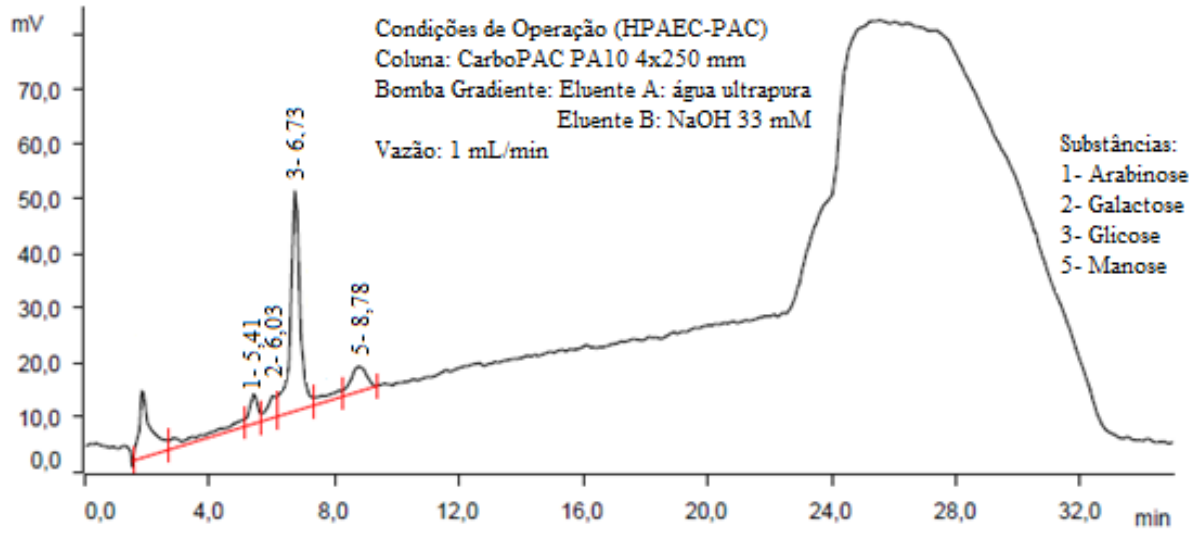


Figura 22- Cromatograma da 3ª leitura realizada após a estabilização do sistema HPAEC-PAC, uma amostra de extrato aquoso de palma miúda, obtido em extração no béquer, a temperatura ambiente.

O cromatograma obtido foi semelhante aquele encontrado para o extrato aquoso obtido pelo sistema Soxhlet: indica a presença de glicose, arabinose, galactose e manose. Existe apenas uma diferença na escala (eixo y) devido ao grau de diluição utilizado. Para avaliar que tipo de extração seria capaz de remover mais açúcares, se a extração realizada em sistema Soxhlet ou se seria a extração realizada em béquer, faz-se necessário à quantificação dos açúcares. Mas como os problemas analíticos impediram essa quantificação, não foi possível obter maiores conclusões. Sabe-se apenas que os tipos de açúcares obtidos, em ambas as extrações, foram os mesmos. Resultado semelhante foi obtido para a amostra de palma gigante, ou seja, a identificação dos mesmos açúcares, sem a possibilidade de realizar a quantificação.

A presença de galactose e manose nessa fração solúvel pode indicar a existência de polímeros de galactomanana, que produzem soluções com alta viscosidade. A galactose encontrada, bem como a arabinose, também podem estar relacionadas a polissacarídeos ricos em ácido galacturônico, ou seja, às pectinas. Já a maior quantidade de glicose encontrada pode ser proveniente de oligossacarídeos (sacarose, lactose, maltose ou rafinose) ou até mesmo da fração mais solúvel de polímeros como o amido. Mas como as amostras não foram analisadas quanto ao teor de oligossacarídeos e ácidos orgânicos, a associação dos açúcares encontrados a possíveis polímeros torna-se uma tarefa difícil.

5.3.4 Hidrólise ácida da biomassa livre de extrativos

Além da análise dos extratos aquosos, foi realizada a caracterização química da biomassa livre de extrativos, ou seja, a biomassa após a extração com água, com etanol, ou com a combinação de duas ou mais etapas de extração. Os valores obtidos para a biomassa de palma miúda estão dispostos na Tabela 23.

Tabela 23- Resultados obtidos na caracterização química de palma forrageira, da variedade miúda, quanto ao teor de extrativos, cinzas e lignina

Tipo de extração	Extrativos (%)	Cinzas antes da extração (%)	Lignina Total (%)	Lignina Insolúvel (%)	Lignina Solúvel (%)
Água	27,9 ± 1,3	9,5 ± 0,2	10,6	7,7 ± 0,1	2,9 ± 0,3
Etanol	12,7 ± 1,6	9,5 ± 0,2	5,5	2,9 ± 0,1	2,6 ± 0,2
Água; etanol	27,3 ± 1,8	9,5 ± 0,2	7,0	4,1 ± 1,1	2,88 ± 0,04
Metanol/etanol; etanol; água	22,3 ± 9,4	9,5 ± 0,2	5,4	2,9 ± 0,5	2,5 ± 0,8
Sem extrair	0	8,6 ± 0,3	6,6	3,4 ± 1,2	3,2 ± 0,2

Foi encontrado alto percentual de cinzas, resultado este já relatado por outros autores (MENEZES et al., 2011). Sabe-se também que a palma contém grande quantidade de cristais de oxalato de cálcio, que contribuem para o teor de cinzas (Menezes et al, 2005). No entanto, ainda não é compreendido o motivo da presença desses cristais em tanta abundância, nem a sua importância no metabolismo da planta. Em regiões onde a palma é muito utilizada para alimentação humana (VALDEZ, 2005), existe inclusive o estudo da associação entre a ocorrência de doenças renais e o consumo de palma.

Para a biomassa de palma miúda, o percentual de lignina encontrado apresentou diferença de acordo com a técnica de extração empregada. Isso se deveu, predominantemente, ao valor de lignina insolúvel, que variou de 2,9% a 7,7%, visto que a lignina solúvel variou apenas entre 2,5% e 3,2%. É interessante ressaltar que a amostra extraída apenas com água foi a que apresentou maior percentual de lignina.

Já havia sido observado anteriormente a importância de ser realizada uma extração com água, devido a sua capacidade de remover grande percentual de solúveis, visto que a biomassa não passou por tratamento prévio de moagem e lavagem. Contudo, a realização

apenas desse tipo de extração exerce forte influência no percentual de lignina insolúvel, visto que até mesmo a amostra que não sofreu nenhum tipo de extração resultou em um menor percentual de lignina insolúvel.

Uma possível explicação para o aumento no percentual de lignina na biomassa proveniente da extração aquosa é a precipitação de polifenóis. Como são extremamente solúveis em etanol, a extração com álcool é capaz de remover os polifenóis da biomassa, evitando, assim, que sejam quantificados como lignina. Esse mesmo comportamento é observado para a biomassa de palma gigante (Tabela 24).

Tabela 24- Resultados obtidos na caracterização química de palma forrageira, da variedade gigante, quanto ao teor de extrativos, cinzas e lignina

Tipo de extração	Extrativos (%)	Cinzas antes da extração (%)	Lignina Total (%)	Lignina Insolúvel (%)	Lignina Solúvel (%)
Água	38,8 ± 0,9	10,2 ± 0,2	16,1	11,6 ± 0,9	4,5 ± 0,2
Etanol	19,6 ± 0,5	10,2 ± 0,2	9,1	4,1 ± 0,4	5,0 ± 0,1
Água; etanol	42,3 ± 0,9	10,2 ± 0,2	12,7	7,7 ± 2,2	5,0 ± 0,2
Metanol/etanol; etanol; água	44,0 ± 0,6	10,2 ± 0,2	12,9	6,6 ± 2,1	6,3 ± 0,2
Sem extrair	0	9,9 ± 0,5	13,4	5,7 ± 0,1	7,7 ± 0,1

Comparando as duas variedades estudadas, em relação ao teor de lignina, observa-se que, independente da técnica de extração utilizada, a palma gigante apresenta maior percentual de lignina do que a palma miúda. Esse resultado já havia sido demonstrado no trabalho de Menezes et al. (2011), que relataram teor de lignina de 6,8% para a variedade de palma miúda e 13,8% para a palma gigante, valores extremamente próximos aos encontrados no presente trabalho, considerando as mesmas condições experimentais, ou seja, biomassa sem prévia extração, tendo sido obtidos 6,6% de lignina para a variedade de palma miúda e 13,4% para a variedade de palma gigante.

Era esperado também que, além de influenciar no teor de lignina, a remoção de extrativos resultasse em modificações nos açúcares obtidos após hidrólise da biomassa. Afinal de contas, a extração aquosa removeria os açucares solúveis e/ou, ainda, os presentes em estruturas facilmente hidrolisáveis, cujas condições de extração (água levemente aquecida e presença de ácidos provenientes da própria planta) fossem suficiente para liberá-los, restando

na biomassa apenas os açúcares provenientes de cadeias com ligações mais fortes, como a celulose.

5.3.5 Teor de açúcares no hidrolisado da biomassa de palma

A biomassa livre de extrativos, ou seja, a biomassa após a extração com água, com etanol, ou com a combinação de duas ou mais etapas de extração, foi submetida à hidrólise ácida para liberação de seus constituintes. O licor de hidrólise foi analisado por cromatógrafo de íons, quanto ao teor de açúcares. A Tabela 25 mostra os resultados obtidos para a amostra de palma miúda, indicando a presença de glicose, xilose, arabinose e galactose.

Tabela 25- Açúcares estruturais da palma miúda, obtidos através da hidrólise da biomassa livre de extrativos e analisados em sistema de cromatografia de troca iônica de alta performance com detector amperométrico (HPAEC-PAC)

Tipo de Extração	Extrativos (%)	Arabinose (%)	Galactose (%)	Glicose (%)	Xilose (%)	Açúcares estruturais (%)
Água	27,9 ± 1,3	4,0 ± 0,5	6,6 ± 0,7	6,5 ± 0,8	3,2 ± 0,5	20,3 ± 2,5
Etanol	12,7 ± 1,6	5,1 ± 0,0	8,5 ± 0,0	7,1 ± 0,1	3,8 ± 0,2	24,5 ± 0,3
Água; etanol	27,3 ± 1,8	4,6 ± 0,1	7,7 ± 0,1	7,0 ± 0,1	3,6 ± 0,0	22,9 ± 0,3
Metanol/etanol; etanol; água	22,3 ± 9,4	4,3 ± 0,3	7,5 ± 0,2	6,8 ± 0,0	3,4 ± 0,2	22,0 ± 0,7
Sem extrair	0	5,0 ± 0,2	8,3 ± 0,2	8,7 ± 0,1	3,7 ± 0,1	25,7 ± 0,6

O resultado obtido está de acordo com o esperado, pois foi observado que as amostras que não foram extraídas com água apresentaram maior teor de açúcares no hidrolisado (24,5 e 25,7% de açúcares), especialmente a amostra que não passou por extração, do que as amostras que passaram por extração aquosa (20,3%, 22,9% e 22,0% de açúcares).

Lembrando que no extrato aquoso também foi encontrada a presença dos açúcares arabinose, galactose e glicose, aqui identificados como açúcares estruturais do resíduo sólido da biomassa de palma. No entanto, não havia sido relatada a presença de xilose no extrato aquoso, e sim de manose.

É possível que parte da xilose encontrada no resíduo sólido da biomassa de palma seja proveniente de polímeros de hemicelulose, enquanto a glicose venha de polímeros de celulose. No entanto, parte da glicose e da xilose encontradas podem estar associadas a

polímeros de pectina, assim como a arabinose e a galactose. Mais uma vez, como as amostras não foram analisadas quanto ao teor de oligossacarídeos e ácidos orgânicos, a associação dos açúcares encontrados à possíveis polímeros torna-se uma tarefa difícil.

Menezes et al. (2011) encontraram 39,9% de açúcares para a biomassa de palma gigante e 52% para a palma miúda. Tais resultados foram obtidos sem a realização de extração da biomassa antes da hidrólise com ácido sulfúrico concentrado (72% m:m). Nessas mesmas condições experimentais, a Tabela 25 mostra que foi obtido 25,7% de açúcares estruturais para a biomassa de palma miúda, cerca da metade do valor encontrado por Menezes et al. (2011), mostrando grande discrepância dos resultados. Não foi encontrada explicação para essa diferença e, como a biomassa foi hidrolisada nem nenhum tratamento prévio, fica ainda mais difícil inferir sobre a origem de tais açúcares: se estavam presentes na biomassa na forma solúvel, se eram provenientes de celulose ou se faziam parte de outros polissacarídeos, como o amido.

A Tabela 26 apresenta o somatório de todas as substâncias analisadas nesse trabalho. Observa-se que o valor máximo encontrado foi de 68,3%, restando ainda mais de 30% de substâncias não quantificadas.

Tabela 26- Resultados obtidos na caracterização química de palma forrageira, da variedade miúda, quanto ao teor de extrativos, cinzas, lignina e açúcares estruturais, bem como o total de todos os compostos analisados

Tipo de extração	Extrativos (%)	Cinzas antes da extração (%)	Lignina Total (%)	Açúcares estruturais (%)	TOTAL (%)
Água	27,9 ± 1,3	9,5 ± 0,2	10,6	20,3 ± 2,5	68,3
Etanol	12,7 ± 1,6	9,5 ± 0,2	5,5	24,5 ± 0,3	52,2
Água; etanol	27,3 ± 1,8	9,5 ± 0,2	7,0	22,9 ± 0,3	66,7
Metanol/etanol; etanol; água	22,3 ± 9,4	9,5 ± 0,2	5,4	22,0 ± 0,7	59,2
Sem extrair	0	8,6 ± 0,3	6,6	25,7 ± 0,6	40,9

Entre as substâncias não quantificadas, estima-se que deve haver grande quantidade de ácidos orgânicos, provenientes do metabolismo da planta. Mas, além da análise de ácidos, recomenda-se uma avaliação detalhada dos possíveis oligossacarídeos presentes. Dessa forma, seria possível um balanço de massa mais favorável, um pouco mais próximo de 100%, e uma maior chance de realizar inferências a respeito da origem dos açúcares encontrados.

Infelizmente, na análise do resíduo sólido livre de extrativos da biomassa de palma gigante também foi constatado erro nos cromatogramas, com modificação no tempo de residência ao longo do tempo, levando a uma calibração ineficiente do sistema. A Tabela 27 mostra os resultados para a palma gigante, indicando a presença dos mesmos açúcares obtidos para a palma miúda, no entanto, com valores superestimando da concentração dos açúcares, devido ao erro analítico.

Tabela 27- Açúcares estruturais da palma gigante, obtidos através da hidrólise da biomassa livre de extrativos e analisados em sistema de cromatografia de troca iônica de alta performance com detector amperométrico (HPAEC-PAC)

Tipo de Extração	Extrativos (%)	Arabinose (%)	Galactose (%)	Glicose (%)	Xilose (%)	Açúcares estruturais (%)
Água	38,8 ± 0,9	11,3 ± 0,3*	14,2 ± 0,3*	21,1 ± 1,9*	4,8 ± 0,9*	51,4 *
Etanol	19,6 ± 0,5	18,8 ± 1,1*	22,6 ± 1,2*	31,5 ± 1,5*	8,5 ± 0,2*	81,4*
Água; etanol	42,3 ± 0,9	15,2 ± 0,8*	18,7 ± 0,6*	25,6 ± 1,1*	6,6 ± 0,3*	66,1*
Metanol/etanol; etanol; água	44,0 ± 0,6	16,0 ± 0,8*	16,5 ± 0,3*	19,7 ± 1,2*	5,8 ± 0,2*	58,0*
Sem extrair	0	4,5 ± 0,2	5,6 ± 0,3	8,1 ± 0,1	2,4 ± 0,1	20,6

* erro na análise

Apesar da falha em quantificar os açúcares encontrados, a análise qualitativa ainda é possível e a indicação dos açúcares presentes na amostra está de acordo com o resultado encontrado para a palma miúda, bem como com resultados apresentado por outros autores (MENEZES et al. 2011).

Devido aos erros analíticos, ficou difícil uma melhor avaliação dos constituintes da biomassa de palma forrageira. Também se deve lembrar que os resultados obtidos neste trabalho encontram-se dependentes de maior estudo da técnica analítica empregada. Ficou claro, no entanto, o importante papel das substâncias viscosas (mucilagens e/ou pectinas) na análise da biomassa de palma forrageira. Esses compostos interferem no processamento do material e aparentam estar presente em grande quantidade, de forma que uma técnica analítica, para se adequar às características dessa biomassa, deve priorizar a identificação e quantificação de tais substâncias.

6 CONCLUSÕES

Extração de biomassa de variedades de sorgo em diferentes fases de desenvolvimento da planta

O bagaço de sorgo sacarino das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15 apresentou elevado percentual de extrato aquoso e extrato etenólico independentemente dos estádios de colheita. Recomenda-se a realização de uma moagem mais eficiente dos colmos de sorgo sacarino, bem como a lavagem exaustiva do bagaço para maior aproveitamento da fração solúvel, rica em açúcares.

Caracterização e pré-tratamento de bagaço de sorgo sacarino (IPA 467)

O tempo de reação se mostrou como o parâmetro de maior significância na eficiência de liberação de xilose, a partir da biomassa de sorgo. O pré-tratamento empregado não alterou significativamente a dispersão de partículas da biomassa.

Caracterização química de palma forrageira

A extração de biomassa de palma forrageira miúda e da palma forrageira gigante resulta em grande percentual de extrativos, especialmente para a palma gigante. Recomenda-se, como preparação da biomassa de palma forrageira para a caracterização química, a extração com água seguida de extração com etanol, ou a moagem e lavagem aquosa da biomassa, seguida de extração com etanol.

A análise do extrato aquoso da biomassa de palma forrageira indica a presença de glicose, arabinose, galactose e manose, enquanto a análise da biomassa livre de extrativos indica a presença dos açúcares estruturais glicose, arabinose, galactose e xilose.

7 TRABALHOS FUTUROS

Realizar a caracterização química do bagaço de sorgo sacarino livre de extrativos, das variedades IPA 467, BR 506 e SF 15, em diferentes fases de desenvolvimento da planta.

Avaliar o pré-tratamento do bagaço de sorgo utilizando tanto o percentual de liberação de xilose, quanto a formação de produtor inibidores (furfural e HMF) como parâmetros de eficiência do processo.

Encontrar método cromatográfico adequado e confiável para a análise dos açúcares provenientes da palma forrageira.

Quantificar, além dos açúcares estruturais, ácidos orgânicos e oligossacarídeos provenientes da palma forrageira.

Desenvolver técnica de separação e caracterização química das substâncias viscosas (mucilagens e/ou pectinas) presentes na palma forrageira.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. C. Espaço e tempo na agroindústria canavieira de Pernambuco. **Estudos Avançados**, São Paulo, v.15, n.43, p. 267-280, 2001.

BELAYACHI, L.; DELMAS, M. Sweet sorghum: a quality raw material for the manufacturing of chemical paper pulp. **Biomass and Bioenergy**, v. 8, n. 6, p. 411-417, 1995.

BNDS; CGEE (Org.). **Bioetanol de cana-de-açúcar**: energia para o desenvolvimento sustentável. 1.ed. Rio de Janeiro: BNDS, 2008.

BRANDÃO, E. M.; ANDRADE, C. T. Influência de fatores estruturais no processo de gelificação de pectinas de alto grau de matoxilação. **Polímeros**, São Carlos, v. 9, n. 3, p. 38-44, 1999.

BRASIL, Ministério de Minas e Energia, Empresa de Pesquisa Energética. **Plano Decenal de Expansão de Energia 2008/2017**. Rio de Janeiro: EPE, v.1, 2009.

CHEN, S.-F.; MOWERY, R. A.; SCARLATA, C. J.; CHAMBLISS, C. K. Compositional analysis of water-soluble material in corn stover. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** v. 55, p. 5912-5918, 2007.

CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. E. S.; GÓMEZ, E. O.; Caracterização da biomassa. In: CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. E. S.; GÓMEZ, E. O. (Org). **Biomassa para energia** Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2008. cap. 2, 31-62.

DOGARIS, I.; KARAPATI, S.; MAMMA, D.; KALOGERIS, E.; KEKOS, D. Hydrothermal processing and enzymatic hydrolysis of sorghum bagasse for fermentable carboydrates production. **Bioresourse Technology**, v. 100, p. 6543-6549, 2009.

DUTRA, E. D.; BARBOSA NETO, A. G.; MENEZES, R. S. C.; JÚNIOR, M. A. M.; NAGAI, M. A.; SANTOS, T. N. Produção de etanol a partir do mosto do colmo de diferentes cultivares de sorgo sacarino em Pernambuco. In: Simpósio nacional de bioprocessos, 18., Caxias do Sul, 2011. **Anais**. Caxias do Sul, 2011.

EMPRESA DE PESQUISAS ENERGÉTICAS (Brasil). **Balanço Energetico Nacional 2010**: Ano base 2009. Rio de Janeiro: EPE, 2010.

EMBRAPA. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/> Acesso em 17 jul. 2010

EMBRAPA, **Sistemas de produção**, 5.ed, 2009. Versão Eletrônica. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo_4_ed/clima.htm>.

FAO- Food and Agriculture Organization of the United Natios. Disponível em: <http://faostat.fao.org/> Acesso em: 17 jul. 2010.

FAO- Food and Agriculture Organization of the United Natios. FAOSTAT 2008. Disponível em: <www.faostat.org/site/567/> Acesso em: 30 out. 2011.

FAO, **Sweet Sorghum in China**. Spotlight/2002 Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2002.

FAO, "Agro-ecology, cultivation and use of cactus pear", 1995. Edição em português: **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**: tradução do SEBRAE/PB, p. 216, 2001.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood**: chemistry, ultrastructure, reactions. Berlin; New York: Walters de Gruyter, 1984.

FOUST, T. D.; ADEN, A.; DUTTA, A.; PHILLIPS, S. An economic and environmental comparison of a biochemical and a thermochemical lignocellulosic ethanol conversion process. **Cellulose.** v. 16, p. 547-565, 2009.

GARCÍA DE CORTÁZAR, V,; NOBEL, P. S. Worldwide environmental productivity indices and yield predictions for a CAM plant, Opuntia ficus-indica including effects of doubled CO_2 levels. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v. 49, p. 261-279, 1990

GÓMEZ, E. O.; ROCHA, J. D.; PÉREZ, J. M. M.; PÉREZ, L. E. B. Pirólise rápida de materiais lignocelulósicos para a obtenção de bioóleo. In: CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. E. S.; GÓMEZ, E. O. (Org). **Biomassa para energia** Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2008. cap. 11, 353-418.

HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, A.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. **Preparation of samples for compositional analysis.** Golden, CO: Laboratory Analytical Protocol (LAP), National Renewable Energy Laboratory (NREL), 2008.

HERRERA, A.; TÉLLEZ-LUIS, S. J.; GONZÁLES-CABRIALES, J. J.; RAMÍREZ, J. A.; VÁSQUEZ, M. Effect of the hydrochloric acid concentratrion on the hydrolysis of sorghum straw at atmospheric pressure. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 103-109, 2004.

HU, Z.; SYKES, R.; DAVIS, M. F.; BRUMMER, E. C.; RAGAUSKAS, A. J. Chemical profiles of switchgrass. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 3253-3257, 2010.

IPCC. Causes of change. In: IPCC Plenary, 27., 2007, Valencia. **Climate Change 2007**: Synthesis Report.Geneva, 2007. p. 35-41.

JUNIOR, A. C. T.; OLIVEIRA, R. A.; PARK, K. J.; Utilização de bagaço de cana-de-açúcar na fabricação de briquetes. In: Congresso interno de iniciação científica da Unicamp, 18., 2010, Campinas. **Paineis**. Campinas:Unicamp, 2010. Disponível em: <http://www.prp.unicamp.br/pibic/congressos/xviiicongresso/paineis.php>. Acesso em 5 maio 2011.

KIM, M.; DAY, D. F. Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Lousiana sugar mills. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 2010.

LI, B.-Z.; BALAN, V.; YUAN, Y.-J; DALE, B. E. Process optimization to convert forage and sweet sorghum bagasse to ethanol based on ammonia fiber expansion (AFEX) pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 1285-1292, 2010.

MALAININE, M. E.; DUFRESNE, A.; DUPEYRE, D.; MAHROUZ, M.; VUONG, R.; VIGNON, M. R. Structure ans morphology of cladodes ans spines of *Opuntia ficus-indica*. Cellulose extraction and characterisation. **Carbohydrate Polymers**, v. 51, p. 77-83, 2003.

MARCOCCIA, R. **Participação do etanol brasileiro em uma nova perspective na matriz energética mundial**. 2007. 95p. Dissertação (Mestrado em Energia) – Programa interunidade de Pós-Graduação em Energia. Universidade de São Paulo. São Paulo.

MENEZES, R.S.C.; SAMPAIO, E.V.S.B.; SALCEDO, I.H.; SOUZA, F.J. Produtividade de palma em propriedades rurais. In: MENEZES, R.S.C.; SIMÕES, D.A.; SAMPAIO, E.V.S.B.(Ed.) **A palma no nordeste do Brasil. Conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Editora Universitária da UFPE. Recife, 2005.

MENEZES, R. S. C.; DUTRA, E. D.; SANTOS, T. N.; SILVA, A. B.; ALBUQUERQUE, D. A. R.; GONDIM, L. A. P.; PRADO, A. G.; SILVA, F. T.; SANTOS, D. C.; ABREU, C. A. M.; JUNIOR, M. A. M.; SIMÕES, D. A. Potencial de produção de biocombustíveis a partir da biomassa de palma. In: Congresso brasileiro de palma e outras cactáces, 2., 2011, Garanhuns. **Anais.** Garanhuns, 2011.

MILLER, G. L., Use of dinitrosalicyIic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, 31(3), pp. 426-428, 1959.

MILLER, F.R. Use of sorghum to produced fermented energy sources. Texas. **Agricultural Experiments Station.** I Reunião do Sorgo Sacarino. Sete Lagoas, MG. 1977.

MONTEIRO, M. C.; ANUNCIAÇÃO FILHO, C. J; TABOSA, J. N.; OLIVEIRA, F. J.; REIS, O. V.; BASTOS, G. Q. Avaliação do Desempenho de Sorgo Forrageiro para o Semi-árido de Pernambuco. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.1, p.52-61, 2004.

NOBEL, P.S. Recent ecophysiological advances for *Opuntia ficus-indica* and other cacti. In: Annual conference of the professional association for cactus development, 1., 1995 San Antonio. **Proceeding.** Dallas: Professional association for cactus development, p. 1-11, 1995.

OECD; IEA. **Key World Energy Statistics**. France, 2009

PANAGIOTOPOULOS, I. A.; BAKKER, R. R.; KOUKIS, E. G.; CLAASSEN, P. A. M. Pretreatmet of sweet sorghum bagasse for hydrogen production by Caldicellulosiruptor saccharolyticus. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, p. 7738-7747, 2010.

PEDREIRA, M. S.; REIS, R. A.; BERCHIELLI, T. T.; MOREIRA, A. L.; COAN, R. M. Características agronômicas e composição química de oito híbridos de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 5, p. 1083-1092, 2003.

RIBEIRO FILHO, N. M.; ALVES, R. M.; FLORÊNCIO, I. M.; FLORENTINO, E. R.; DANTAS, J. P. Viabilidade de utilização do caldo de sorgo sacarino para produção de alcool carburente (etanol). In: Congresso Norte-Nordeste de Química, 1., 2007, Natal. **Trabalhos apresentados.** Natal: ANNQ, 2007. Disponível em: <http://annq.org/congresso2007/trabalhos_apresentados/T59.pdf>

SALVI, D. A.; AITA, G. M.; ROBERT, D. BAZAN, V. Ethanol production from sorghum by a diluite ammonia pretreatment. **Journal of Indistrial Microbiology and Biotechnology**, v. 37, p. 27-34, 2010.

SAMPAIO, E.V.S.B. Fisiologia da palma. In: **A palma no nordeste do Brasil. Conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Editores: Rômulo S. C. Menezes, Diogo A. Simões, Everardo V. S. B. Sampaio. Editora Universitária da UFPE. Recife, 2005, p. 43-55.

SANCHES, D.G.; PÉREZ, A.D.C. **El nopal**: Historia, fisiología e importancia frutícola. Ed. Trillas. México, 1991. 227p

SANTOS, M. V. F.; FERREIRA, M. A.; BATISTA, A. M. V.; Valor nutritivo e utilização da palma forrageira na alimentação de ruminantes. In: MENEZES, R.S.C.; SIMÕES, D.A.; SAMPAIO, E.V.S.B.(Ed.) **A palma no nordeste do Brasil. Conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Editora Universitária da UFPE. Recife, 2005, p. 143-162.

SILVA, C. C. F.; SANTOS, L. C. Palma forrageira (Opuntia Ficus- Indica Mill) como alternativa na alimentação de ruminantes. **Revista Eletrônica de Veterinaria**, v. 7, n. 10, 2006.

SIPOS, B.; RÉCZEY, J.; SOMORAI, Z.; KÁDÁR, Z.; DIENES, D.; RÉCZEY, K. Sweet sorghum as feedstock for ethanol production: Enzymatic hydrolysis os steam-pretreated bagasse. **Applied Biochemistry and Biotechnology** v. 153, p. 151-162, 2009.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; CROCKER, D. **Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass.** Golden, CO: Laboratory Analytical Protocol (LAP), National Renewable Energy Laboratory (NREL), 2008a.

SLUITER, A.; HAMES, B.; HYMAN, D.; PAYNE, C.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; WOLFE, J. **Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid procees samples.** Golden, CO: Laboratory Analytical Protocol (LAP), National Renewable Energy Laboratory (NREL), 2008b.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. **Determination of ash in biomass.** Golden, CO: Laboratory Analytical Protocol (LAP), National Renewable Energy Laboratory (NREL), 2008c.

SLUITER, A.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. **Determination of extractives in biomass.** Golden, CO: Laboratory Analytical Protocol (LAP), National Renewable Energy Laboratory (NREL), 2008d.

SLUITER, A; SLUITER, J. **Summative mass closure.** Golden, CO: Laboratory Analytical Protocol (LAP), National Renewable Energy Laboratory (NREL), 2010.

SOUZA, C. C.; DANTAS, J. P.; SILVA, S. M.; SOUZA, V. C.; ALMEIDA, F. A.; SILVA, L. E. Produtividade do Sorgo granífero cv. sacarino e qualidade de produtos formulados isoladamente ou combinados ao caldo de cana-de-açúcar**. Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, jul./set. 2005.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review **Bioresource Technology**, Essex, v. 83, p. 1-11, 2002.

TABOSA, J. N. **IPA incentiva Agronegócio do Milho.** Disponível em: <http://www.ipa.br/noticias_detalhe.php?idnoticia=331&secao=1>. Acesso em: 19 jul. 2010.

TABOSA, J. N.; NASCIMENTO, M. M. A.; REIS, O. V.; BRITO, A. R. M. B.; TAVARES FILHO, J. J.; FERRAZ, I. Produção de biomassa e eficiência de uso de água de cultivares e sorgo no semi-árido de Pernambuco em dois estádios de colheita. In: **Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, 28, 2010, Goiânia. Anais. p. 2233-2239.

TABOSA, J. N.; REIS, O. V.; BRITO, A. R. M. B.; MONTEIRO, M. C. D.; SIMPLÍCIO, J. B.; OLIVEIRA, J. A. C.; SILVA, F. G.; AZEVEDO NETO, A. D.; DIAS, F. M.; LIRA, M. A.; TAVARES FILHO, J. J.; NASCIMENTO, M. M. A.; LIMA, L. E.; CARVALHO, H. W. L.; OLIVEIRA, L. R. Comportamento de cultivares de sorgo forrageiro em diferentes ambientes agroecológicos dos estados de Pernambuco e Alagoas. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 2, p. 47-58, 2002.

TEIXEIRA, C. G.; JARDINE, J. G.; NICOLELLA, G.; ZARONI, M. H. Influência da época de corte sobre o teor de açúcares de colmos de sorgo sacarino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1601-1606, 1999.

TOSTO, M. S. L.; ARAÚJO, G. G. L.; OLIVEIRA, R. L.; BAGALDO, A. R.; DANTAS, F. R.; MENEZES, D. R.; CHAGAS, E. C. O. Composição química e estimativa de energia da palma forrageira e do resíduo desidratado de vitivinícolas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 8, n. 3, p. 239-249, 2007.

VAN SOEST, P. J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin, **Journal of the Association of Official Agricultural Chemists,** n. 46, p. 829-835, 1963.

VARGAS BETANCUR, G. J.; PEREIRA JÚNIOR, N. Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I: Diluited acid pretreatment optimization. **Electronic Journal of Biotechnology**, Chile, v. 13, n.3, 2010.

VÁSQUEZ, M.; OLIVA, M.; TÉLLESZ-LUIS, S. J.; RAMÍREZ, J. A. Hydrolysis of sorghum straww using phosphoric acid: Evaluation of furfural production. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 3053-3060, 2007.

Winner Network. **Village Level Bioenergy System Based on Sweet Sorghum**, 2002, Disponível em:
< http://www.winner-tips.org/article/articleview/319/1/17/index.html>. Acesso em: 20 jul. 2010.

XU, F.; SHI, Y.-C.; WU, X.; THEERARATTANANOON, K.; STAGGENBORG, S.; WANG, D. Sulfuric acid pretreatment and enzymatic hydrolysis of photoperiod sensitive sorghum for etanol production. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 2010.

YU, J.; ZHONG, J.; ZHANG, X.; TAN, T. Ethanol production from H_2SO_3-steam-pretreated fresh sweet sorghum stem by simultaneous saccharification and fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.160, p. 401-409, 2010.

YU, Q.; ZHUANG, X.; YUAN, Z.; QI, W.; WANG, Q.; TAN, X. The effect os metal salts on the decomposition of sweet sorghum bagasse in flow-through liquid hot water. **Bioresource Technology**, v.102, p. 3445-3450, 2011.

ZHANG, J.; MA, X.; YU, J.; ZHANG, X.; TAN, T. The effects of four different pretreatments on enzymatic hydrolysus of sweet sorghum bagasse. **Bioresource Technology**, 2010.

APÊNDICE

A- Determinação de umidade

Para determinação da umidade, foi realizado o seguinte procedimento:

- Pesar de 0,5 a 2,0 g ± 0,1 mg de amostra em três cadinhos de porcelana previamente tarados;

- Levar os cadinhos a estufa a 105 °C até massa constante, sendo massa constante definida por variação de massa inferior a 0,1% após 1 h de reaquecimento da amostra a 105 °C;

- Após resfriar em dessecador, pesar os cadinhos com precisão de 0,1 mg;

- A umidade foi então calculada através da equação 2:

$$\%\, umidade = 100 - \left(\frac{massa_{\,amostra\ e\ cadinho\ secos} - massa_{cadinho}}{massa_{amostra\ inicial}}\right) \qquad \text{Eq. 2}$$

B- Determinação de cinzas

Para determinação de cinzas, foi realizado o seguinte procedimento:

- Pesar de 0,5 a 2,0 g ± 0,1 mg de amostra com umidade conhecida, em três cadinhos de porcelana previamente tarados;

- Levar os cadinhos a mufla a 105 °C por cerca de 12 minutos;

- Elevar a temperatura da mufla para 250 °C e manter a calcinação nessas condições por cerca de 30 minutos, o suficiente para total digestão do material;

- Finalmente, elevar a temperatura para 800 ± 25 °C e manter por, no mínimo 180 minutos, até que a amostra atinja massa constante. Nesse caso, massa constante é definida por variação de massa inferior a 0,3 mg após 1 h de reaquecimento da amostra à 575 ± 25 °C;

- Antes de abrir a mufla para retirada das amostras, deve-se resfriá-la até 105 °C;

- Após retiradas da mufla, as amostras devem ser resfriadas em dessecador, por um intervalo de tempo igual ao utilizado na limpeza dos cadinhos, para serem tarados;

- Pesar os cadinhos com precisão de 0,1 mg;

O teor de cinzas foi então calculado através da equação 3:

$$\%\, cinzas = \frac{massa_{cadinho\ e\ cinzas} - massa_{cadinho}}{massa_{amostra\ inicial\ em\ MS}} \times 100 \qquad \text{Eq. 3}$$

Onde a massa de amostra em matéria seca (MS) é dada pela equação 4:

$$massa_{amostra\ inicial\ em\ MS} = \frac{massa_{amostra\ in\ natura} \times (100 - \%\ umidade)}{100} \qquad \text{Eq. 4}$$

Vale ressaltar que a determinação de cinzas deve ser realizada em paralelo a determinação de umidade, a partir do mesmo material.

C- Determinação de extrativos

Para determinação de extrativos, foi realizado o seguinte procedimento:

- Pesar de 2 a 10 g da amostra em cartucho de extração de celulose previamente tarado, com precisão de 1 ou 0,1 mg;
- Em paralelo, pesar amostra para determinar umidade, de acordo com procedimento anteriormente descrito;
- Posicionar o cartucho com a amostra na corneta de extração de sistema Soxhlet;
- Adicionar 190 mL do solvente (água, álcool etílico 96°GL, ou metanol/etanol) no balão volumétrico;
- Ligar a chapa ou manta aquecedora para dar início a extração;
- Realizar o processo de extração até que o solvente ao redor do cartucho de extração retorne a aparência inicial, ou seja, incolor para o caso de água e etanol.
- Após o resfriamento do sistema, retirar o cartucho de extração do sistema e deixar à temperatura ambiente para que a maior parte do solvente evapore;
- Levar o cartucho para secagem, em estufa a 105 °C, até massa constante;
- Resfriar a amostra em dessecador e pesar com precisão de 1 ou 0,1 mg.

O percentual de extrativos foi então calculado através da equação 5:

$$\%\ extrativos = \frac{massa_{cartucho\ e\ amostra\ secos} - massa_{cartucho}}{massa_{amostra\ inicial\ em\ MS}} \times 100 \qquad \text{Eq. 5}$$

Onde a massa de amostra em matéria seca (MS) foi calculada de acordo com a equação 6:

$$massa_{amostra\ inicial\ em\ MS} = \frac{massa_{amostra\ in\ natura} \times (100 - \%\ umidade)}{100} \qquad \text{Eq. 6}$$

D- Determinação de carboidratos e lignina

- Pesar 0,300 ±0,010 g da amostra livre de extrativos, com umidade conhecida, em um béquer de 50 mL. Realizar o ensaio em triplicata;

- Adicionar 3,00 ± 0,01 mL (ou 4,92 ± 0,01 g) de H_2SO_4 72% (p:p) e agitar com bastão de vidro, a fim de homogeneizar a solução;

- Colocar os béqueres em banho térmico a 30 ± 3 °C, mantendo essas condições durante 1h;

- Agitar a solução com bastão de vidro a cada 10 minutos, a fim de garantir uma hidrólise homogênea;

- Diluir a concentração de ácido para 4%, adicionando 84,00 ± 0,04 mL de água deionizada e transferir o material para frascos Erlenmeyer de 250 mL ou 500 mL;

- Preparar solução padrão de açúcares (SRS) para corrigir as perdas de açúcares durante a hidrólise ácida diluída: Pesar, com precisão de 0,1 mg, quantidades adequadas de cada açúcar (glicose, xilose e arabinose), de forma que a concentração final seja próxima da concentração de açúcares liberados pela amostra analisada; Adicionar 10,0 mL de água deionizada; Adicionar 348 µL de ácido sulfúrico 72%; Transferir para frasco Erlenmeyer;

- Vedar os frascos Erlenmeyer com o auxílio de papel alumínio e fita crepe e autoclavar as amostras a 121 °C por 1 h, juntamente com os padrões de açúcares;

- Após a descompressão, os frascos Erlenmeyer devem ser resfriados e filtrados em cadinhos filtrantes previamente tarados, com o auxílio de uma bomba à vácuo, medindo e anotando o volume do filtrado;

Têm-se agora duas frações distintas: o hidrolisado, fração líquida filtrada, e o resíduo sólido, retido na filtragem. Com o hidrolisado foram determinados os teores de açúcares correspondentes a cada carboidrato (glicose da celulose; xilose e arabinose da hemicelulose) e o percentual de lignina solúvel. A partir do resíduo sólido foi determinado o percentual de lignina insolúvel.

- Uma fração do hidrolisado foi utilizada para análise de lignina solúvel através de leitura de absorbância em espectrofotômetro UV-visível, no máximo 6h após realização da hidrólise:

- Anotar o valor da absorbância, medida a 205 nm, com três casas decimais. A reprodutibilidade deve ser de 0,05 unidades e, caso a absorbância não esteja na faixa de 0,7 a 1,0, deve-se realizar diluição da amostra.

O percentual de lignina solúvel (LS) foi calculado através da equação 7:

$$\%\ LS = \frac{UV_{abs} \times Volume_{filtrado} \times Diluição}{\varepsilon \times massa_{amostra\ em\ MS}} \times 100 \qquad \text{Eq. 7}$$

Onde:

UV_{abs} = absorbância UV-Vis média, para amostra à 205 nm;

Volume $_{fitrado}$ = volume da fração líquida da hidrólise, aproximadamente 87 mL;

$$Diulição = \frac{Volume_{amostra} + Volume_{solvente\ de\ diluição}}{Volume_{amostra}} \qquad \text{Eq. 8}$$

Massa $_{amostra\ em\ MS}$ = massa inicial da amostra em matéria seca;

ε = absortividade do material à 205 nm, 105 L/g.cm

➢ Outra fração do hidrolisado foi utilizada para determinação de açúcares por cromatografia:

- Filtrar uma pequena fração do hidrolisado em membrana de 22 µm e analisar os teores de açúcar por cromatografia.

- Além das amostras, devem ser analisadas as soluções padrão de açúcares (SRS), autoclavadas junto com as amostras, a fim de corrigir as perdas de açúcares durante a hidrólise ácida diluída. Para cada açúcar analisado deve ser calculado o percentual de recuperação do açúcar ($\%R_{açúcar}$) através da equação 9:

$$\%\ R_{açúcar} = \frac{concentração\ detectada\ por\ CLAE}{concentração\ padrão\ conhecida} \times 100 \qquad \text{Eq. 9}$$

- As concentrações de cada componente (C_{CLAE}) devem ser obtidas por correlação entre as áreas dos cromatogramas e curvas analíticas, previamente determinadas por padrões de açúcar. Deve-se ainda realizar uma correção de tais valores, de acordo com o de recuperação do açúcar ($\%R_{açúcar}$) para cada um dos componentes analisados, de acordo com a equação 10:

$$C_{açúcar} = \frac{C_{CLAE} \times fator\ de\ diluição}{\%\ R_{açúcar}/_{100}} \qquad \text{Eq. 10}$$

- A conversão de massa de glicose para massa de celulose é realizada utilizando-se o fator 0,90. Da mesma forma o fator de conversão de xilose e arabinose em hemicelulose é 0,88. O teor de celulose e hemicelulose podem então ser calculados, de acordo com as equações 11 e 12, respectivamente.

$$\%\ celulose = \frac{C_{glicose} \times\ 0{,}90\ \times V_{filtrado} \times \frac{1g}{1000mg}}{massa_{amostra\ inicial\ em\ MS}} \times 100 \qquad \text{Eq. 11}$$

$$\%\ hemicelulose = \frac{(C_{xilose} + C_{arabinose}) \times\ 0{,}88\ \times V_{filtrado} \times \frac{1g}{1000mg}}{massa_{amostra\ inicial\ em\ MS}} \times 100 \qquad \text{Eq. 12}$$

Onde o volume do filtrado foi medido previamente, sendo aproximadamente 87,00 mL, e a amostra inicial em matéria seca está em base livre de extrativos.

➢ O resíduo sólido resultante da filtragem da amostra hidrolisada foi utilizado para determinação de lignina insolúvel:

- Usar água deionizada para remover quantitativamente todo o material sólido remanescente no frasco Erlenmeyer;
- Lavar o material retido no cadinho filtrante com no mínimo 50 mL de água deionizada;
- Secar o cadinho filtrante, junto com o resíduo, em estufa à 105°C até massa constante;
- Após resfriar em dessecador, os cadinhos devem ser pesados, com precisão de 0,1 mg;

O cálculo do percentual de lignina insolúvel (LI) e realizado através da equação 13:

$$\%\ LI = \frac{massa_{cadinho\ filtrante\ e\ amostra\ secos} - massa_{cadinho\ filtrante}}{massa_{amostra\ inicial\ em\ MS}} \times 100 \qquad \text{Eq. 13}$$

➢ O percentual total de lignina é a soma da lignina solúvel com a insolúvel, de acordo com a equação 14:

$$\%\ lignina = \%\ LS + \%\ LI \qquad \text{Eq. 14}$$

E- Desvio padrão amostral

Todos os experimentos foram realizados em duplicata, no mínimo, sendo o desvio padrão (σ) calculado de acordo com a equação 15:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - x_m)^2}{n-1}} \qquad \text{Eq. 15}$$

Onde n é o número de repetições do experimento, x_i é o valor da repetição i, e x_m é a raiz quadrada da média de todos os valores x do experimento, expressa pela equação 16:

$$x_m = \sqrt{\left(\frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{n}\right)^2} \qquad \text{Eq. 16}$$