

Genótipos de Sorgo com Potencial para Sacarificação



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
182**

**Genótipos de Sorgo com Potencial
para Sacarificação**

Maria Lúcia Ferreira Simeone
Cynthia Maria Borges Damasceno
Luciano Gomes Fietto
Valquíria Júnias Campos
Rafael Augusto da Costa Parrella
Robert Eugene Schaffert

***Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2018***

Esta publicação está disponível no endereço:

<https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/publicacoes>

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
www.embrapa.br/fale-conosco/sa

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente

Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo

Elena Charlotte Landau

Membros

*Antonio Claudio da Silva Barros, Cynthia
Maria Borges Damasceno, Maria Lúcia
Ferreira Simeone, Roberto dos Santos
Trindade e Rosângela Lacerda de Castro*

Revisão de texto

Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica

Rosângela Lacerda de Castro (CRB 6/2749)

Tratamento das ilustrações

Tânia Mara Assunção Barbosa

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto da capa

Rafael Augusto da Costa Parrella

1ª edição

Formato digital (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Nome da unidade catalogadora

Genótipos de sorgo com potencial para sacarificação / Maria Lúcia Ferreira
Simeone ... [et al.]. – Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2018.

19 p. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo,
ISSN 1679-0154; 182).

1. Sorgo. 2. Composição química. 3. Recurso energético. 4. Etanol. I. Simeo-
ne, Maria Lúcia Ferreira. II. Damasceno, Cynthia Maria Borges. III. Fietto, Luciano
Gomes. IV. Campos, Valquíria Júnia. V. Parrella, Rafael Augusto da Costa. VI.
Schaffert, Robert Eugene. VII. Série.

CDD 633.174 (21. ed.)

Rosângela Lacerda de Castro (CRB 6/2749)

© Embrapa, 2018

Sumário

Resumo4

Abstract6

Introdução.....7

Material e Métodos9

Resultados e Discussão11

Conclusões.....15

Referências16

Genótipos de Sorgo com Potencial para Sacarificação

Maria Lúcia Ferreira Simeone¹

Cynthia Maria Borges Damasceno²

Luciano Gomes Fietto³

Valquíria Júnia Campos⁴

Rafael Augusto da Costa Parrella⁵

Robert Eugene Schaffert⁶

Resumo – Entre as novas fontes de biomassa com características ideais para atender os desafios de sustentabilidade e utilização alternativa aos recursos fósseis, encontra-se o sorgo biomassa como uma fonte promissora para a obtenção do etanol de segunda geração. Neste processo de bioconversão da biomassa lignocelulósica em etanol, a principal etapa consiste em estabelecer um pré-tratamento adequado para remover lignina, hemicelulose e reduzir a cristalinidade, bem como o grau de polimerização da celulose, para torná-la mais susceptível à hidrólise enzimática e, conseqüentemente, à produção de açúcares. O objetivo do trabalho foi analisar a composição química e o potencial de sacarificação de cinco genótipos de sorgo desenvolvidos pela Embrapa e com características bioenergéticas diferentes, sendo dois genótipos de sorgo biomassa tipo bmr (201552B003 e 201552B18), um híbrido biomassa comercial (BRS716), uma linhagem comercial de sorgo sacarino (BRS511) e um genótipo experimental biomassa-sacarino (201641B-138). Os genótipos foram caracterizados quanto aos teores de celulose, hemicelulose, lignina, cinzas e rendimento de glicose após hidrólise enzimática da biomassa (sacarificação). Os dois genótipos de sorgo biomassa bmr e a linhagem

¹ Química, D.Sc. em Química Orgânica, Pesquisadora em Análise Química da Embrapa Milho e Sorgo.

² Bióloga, Ph.D. em Fitopatologia e Biologia Molecular, Pesquisadora em Biologia Molecular de Plantas da Embrapa Milho e Sorgo.

³ Farmacêutico, D.Sc. em Bioquímica e Biologia Molecular, Pesquisador em Biotecnologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa.

⁴ Ciências biológicas, Doutoranda em Bioquímica Aplicada na Universidade Federal de Viçosa.

⁵ Eng.-Agrôn., Ph.D. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisador em Melhoramento de Plantas da Embrapa Milho e Sorgo.

⁶ Eng.-Agrôn., Ph.D. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisador em Melhoramento de Plantas da Embrapa Milho e Sorgo.

comercial de sorgo sacarino (BRS511) apresentaram os menores teores de lignina, porém os genótipos de sorgo bmr apresentaram os maiores teores de hemicelulose. A conversão da biomassa pré-tratada em glicose foi mais eficiente para os genótipos 201552B003, 201552B18 e BRS511, sendo que o genótipo 201552B003 destacou-se por apresentar o maior teor de glicose após 72 horas de sacarificação ($0,166 \text{ g.g}^{-1}$). Esses resultados contribuem com informações para a utilização do sorgo biomassa como fonte de matéria-prima para a obtenção de açúcares fermentescíveis para produção de bioetanol.

Termos para indexação: etanol de segunda geração, pré-tratamento ácido, hidrólise enzimática, *brown midrib*, açúcares.

Sorghum Genotypes with Potential for Saccharification

Abstract – Among new biomass sources presenting ideal traits for cellulosic ethanol production, high biomass sorghum is considered a promising alternative to meet the challenges of sustainability and fossil fuel decline. Conversion of lignocellulosic biomass into ethanol requires a pretreatment step to remove lignin, hemicellulose and to reduce cellulose crystallinity. The pretreatment makes cellulose more available to enzymatic hydrolysis (saccharification), increasing glucose content, which will be used in the next fermentation step. This work aimed to analyze the chemical composition and saccharification potential of five sorghum genotypes developed by Embrapa, differing on bioenergy related traits: two high biomass brown midrib (bmr) mutant lines (201552B03 and 201552B18), a high biomass hybrid (BR716), a commercial sweet sorghum line (BRS511) and an experimental biomass-sweet sorghum genotype (201641B-138). Cellulose, hemicellulose, lignin and ashes content, as well as glucose yield after enzymatic hydrolysis were evaluated for all genotypes. While brown midrib lines presented the highest levels of hemicellulose, they also showed the lowest levels of lignin content, as did BRS511. Consequently, saccharification efficiency was higher in these genotypes and 201552B003 yielded the highest glucose content after 72 hours of saccharification (0.166 g.g^{-1}). These results contribute to the current knowledge on biomass sorghum, as a suitable biomass source for fermentable sugars production and ethanol generation.

Index terms: cellulosic ethanol, acid pretreatment, enzymatic hydrolysis, *brown midrib*, sugars.

Introdução

O Brasil, referência internacional na geração e na utilização de fontes renováveis de energia, apresenta uma grande oportunidade de desenvolvimento econômico e social, por meio da produção de biocombustíveis. Atualmente, a produção de etanol no País constitui um mercado em ascensão para a geração de combustível renovável e para o estabelecimento de uma indústria química de base, sustentada na utilização de biomassa de origem vegetal e renovável.

A tecnologia de conversão de biomassa lignocelulósica em açúcares fermentescíveis para a produção de etanol é uma alternativa promissora para atender a demanda mundial por combustíveis. Apesar de já existirem tecnologias disponíveis para o processamento da celulose, a maioria esbarra em dificuldades técnicas ou econômicas (Zheng et. al., 2009; Hendriks; Zeeman, 2009).

Nesse sentido, um dos principais problemas que envolvem a produção de etanol celulósico consiste na ruptura da parede celular, liberando os polissacarídeos como fonte de açúcares fermentescíveis de forma eficiente e economicamente viável. Os açúcares presentes na biomassa vegetal encontram-se na forma de polímeros (celulose e hemicelulose), os quais estão organizados em uma matriz juntamente com a lignina, um polímero heterogêneo. As propriedades físico-químicas da celulose, hemicelulose, lignina e as limitações que estes constituintes podem causar no processo de conversão da biomassa em açúcares fermentescíveis fazem da caracterização físico-química um ponto chave de controle para a obtenção de materiais com maior eficiência para produção de biocombustíveis (Hendriks; Zeeman, 2009).

Neste processo de bioconversão da biomassa lignocelulósica em etanol, a principal etapa consiste em estabelecer um pré-tratamento adequado para remover lignina, hemicelulose e reduzir a cristalinidade, bem como o grau de polimerização da celulose, para torná-la mais susceptível à hidrólise enzimática (sacarificação) e, conseqüentemente, à produção de açúcares para a fermentação e obtenção do etanol (Alvira et al., 2010; Wu et al., 2013). A sacarificação é o processo de hidrólise no qual a celulose é convertida em açúcares fermentáveis. Essa hidrólise é realizada pela adição de enzimas e

pode ocorrer em separado ou simultaneamente ao processo de fermentação. Dessa forma, a eficiência do pré-tratamento interfere diretamente no rendimento dos monossacarídeos e nos custos do processo (Jönsson; Martín, 2016). Diferentes métodos de pré-tratamentos são usados (Anwar et al., 2012), mas o tratamento com ácido diluído é considerado eficaz porque pode ser utilizado para diferentes matérias-primas (Lloyd; Wyman, 2005; Mosier et al., 2005). Entretanto, alguns dos monossacarídeos produzidos durante o pré-tratamento, como as hexoses e pentoses, podem ser convertidos, dependendo das condições do pré-tratamento, a 5-hidroximetilfurfural (HMF) e furfural, respectivamente. Estes compostos atuam como inibidores e modulam a atividade das enzimas durante o processo de fermentação (Chandra et al., 2007). Portanto, as condições ideais de pré-tratamento devem ser aquelas que produzem o máximo teor de açúcares com menor teor de compostos inibidores (Choudhary et al., 2013).

Entre as novas fontes de biomassa com características ideais para atender os desafios de sustentabilidade e utilização alternativa aos recursos fósseis, encontra-se o sorgo biomassa, matéria-prima promissora para a obtenção do etanol de segunda geração (Zhao et al., 2009; Cardoso et al., 2013). O sorgo biomassa é caracterizado como uma planta C4, apresentando alta eficiência fotossintética e um grande acúmulo de biomassa seca (30 t.ha⁻¹ em escala comercial) quando comparado com outras culturas (Parrella et al., 2018). Apresenta uma composição química diversificada em relação aos constituintes da parede celular e alguns genótipos de sorgo tipo *brown midrib* (*bmr*) possuem baixos teores de lignina em sua composição, reduzindo os custos do processamento da produção de etanol de biomassa (Reddy et al., 2008). Já o sorgo sacarino apresenta caldo rico em sacarose, o qual pode ser fermentado para a obtenção de etanol de primeira geração e o bagaço ser utilizado para a obtenção de etanol de segunda geração. Nesse contexto, torna-se necessário caracterizar diferentes genótipos de sorgo quanto ao perfil dos constituintes da parede celular, uma vez que eles podem causar limitações no processo de conversão da biomassa em energia (Singh et al., 2015).

Assim, o objetivo do trabalho foi analisar a composição química e o potencial de sacarificação de cinco genótipos de sorgo com características bioenergéticas diferentes, sendo dois genótipos de sorgo biomassa tipo *bmr* (201552B003 e 201552B18), um híbrido biomassa comercial (BRS716), uma

linhagem comercial de sorgo sacarino (BRS511) e um genótipo experimental biomassa-sacarino (201641B-138).

Material e Métodos

Amostras

As amostras de biomassa de sorgo foram obtidas de experimentos conduzidos pelo programa de melhoramento de sorgo da Embrapa Milho e Sorgo no ano agrícola 2015/2016, em Sete Lagoas, Minas Gerais. As parcelas experimentais de dois genótipos tipo *bmr* (201552B003 e 201552B18), um híbrido biomassa comercial (BRS716), uma linhagem comercial de sorgo sacarino (BRS511) e um genótipo experimental biomassa-sacarino (201641B-138) foram constituídas por quatro fileiras de 5 m de comprimento e espaçadas por 0,70 m, em delineamento em blocos ao acaso com três repetições.

Os colmos de cada genótipo foram colhidos manualmente (10 colmos), nas duas fileiras centrais de cada parcela e triturados em picador. Depois, o material foi seco em estufa de circulação de ar a 65 °C até peso constante. Em seguida, as amostras foram trituradas em moinho de facas tipo Willey na granulometria de 1 mm.

Caracterização físico-química

Na caracterização físico-química das amostras de sorgo energia (sacarino, biomassa e *bmr*), os teores de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), e lignina detergente ácida foram obtidos conforme o método descrito por Van Soest (1994).

A quantidade de celulose foi determinada pela diferença entre FDA e lignina, e o teor de hemicelulose foi encontrado como a diferença entre FDN e FDA. A biomassa foi submetida à ignição a 500 °C em mufla por 4 h para a determinação do teor de cinzas. O teor de matéria seca foi obtido em estufa, a 105 °C, conforme Nogueira e Souza (2005).

Hidrólise enzimática

As amostras de biomassa foram moídas a 1 mm e submetidas a pré-tratamento com solução de ácido sulfúrico 0,5% sob pressão por 30 minutos. Posteriormente, o resíduo sólido foi lavado três vezes com água deionizada, seguido de secagem em placa de Petri aberta em estufa a 50 °C por 24 horas.

A fração sólida obtida após o pré-tratamento ácido foi utilizada como substrato para os experimentos de sacarificação. A hidrólise foi realizada em uma incubadora, com agitação orbital por 72 horas utilizando-se enzima comercial Celluclast (Sigma), e as definições de unidades de atividade enzimática e temperatura foram padronizadas conforme relatado pelo fabricante. Foram coletadas alíquotas para análise do teor de glicose nos tempos 0 (zero), 12, 24, 36, 48 e 72 h.

Quantificação do teor de glicose

A quantificação do teor de glicose obtida após a sacarificação (hidrólise enzimática) foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando uma coluna de troca iônica Aminex HPX-87H, marca Bio-Rad, mantida a 45 °C e um detector de índice de refração. A fase móvel utilizada foi uma solução de ácido sulfúrico 5 mMol.L⁻¹, a uma vazão de 0,7 mL.min⁻¹. Para a construção da curva analítica foi utilizada sacarose da marca Sigma com grau de pureza de 99,5% (m/m). A detecção da sacarose nas amostras foi realizada pela comparação com o tempo de retenção do padrão.

A quantidade de glicose liberada para cada grama de amostra pré-tratada foi calculada a partir da equação 1.

$$\text{Rendimento de Glicose (g.g}^{-1}\text{)} = \frac{\text{glicose (g.L}^{-1}\text{)} \times \text{volume (L)}}{\text{biomassa pré-tratada (g)}} \quad \text{eq.01}$$

Análise estatística

As análises para a caracterização físico-química, hidrólise enzimática e quantificação do teor de glicose foram realizadas em triplicatas, e os resultados foram analisados utilizando o *software* SISVAR (Ferreira, 2014). As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1, tem-se a composição química da biomassa não tratada para os genótipos de sorgo energia avaliados. Os dois genótipos de sorgo biomassa *bmr* (201552B003 e 201552B18) diferiram significativamente do genótipo biomassa comercial BRS 716 nos valores de hemicelulose, lignina e cinzas, sendo que os dois genótipos *bmr* apresentaram os menores teores de lignina e maiores teores de hemicelulose. O teor de cinzas foi menor para os genótipos BRS 716 e 201641B-138. O genótipo BRS 511 apresentou o menor teor de celulose entre os avaliados. O genótipo experimental biomassa-sacarino (201641B-138) apresentou teor de celulose comparável ao genótipo 201552B18 e os outros constituintes (hemicelulose, lignina e cinzas) comparável ao genótipo BRS 716.

Tabela 1. Comparação de médias de celulose, hemicelulose, lignina e cinzas, obtidas para a caracterização dos genótipos de sorgo energia¹.

Genótipo	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Cinzas (%)
201552B003 (<i>bmr</i>)	36,38±2,61 b	27,87±1,21 b	4,02±0,51 a	3,53±0,45 b
201552B18 (<i>bmr</i>)	38,33±0,63 c	27,92±1,84 b	5,74±0,10 b	5,70±0,63 c
201641B-138 (biomassa-sacarino)	41,13±1,24 c	24,59±1,36 a	6,44±0,2 c	2,43±0,2 a
BRS 511 (sacarino)	27,13±2,53 a	24,60±1,4 a	5,81±0,44 b	5,08±0,56 c
BRS 716 (biomassa)	33,26±3,49 b	24,43±1,28 a	7,05±0,24 c	2,34±0,26 a

¹Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ao nível 5% de probabilidade.

A composição química dos cinco genótipos de sorgo energia apresentou resultados bem distintos em relação aos constituintes, sendo que os teores de carboidratos (celulose e hemicelulose), lignina e cinzas foram semelhantes com os relatados por Li et al. (2010) e Saini et al. (2013) e inferiores aos de madeiras típicas como o eucalipto (Yang et al., 2002). O menor teor de cinzas dos genótipos 201641B-138 (biomassa-sacarino) e BRS716 (biomassa), respectivamente, 2,43 e 2,34 %) em comparação com outros resíduos

agrícolas, como palha de trigo, pode ser potencialmente benéfico para a hidrólise enzimática, como sugerido por Yu e Chen (2010).

O aumento do rendimento da sacarificação da biomassa é obtido após a realização de pré-tratamentos na biomassa antes da etapa de hidrólise enzimática, uma vez que os pré-tratamentos diminuem a cristalinidade da celulose e quebram as interações entre lignina e hemicelulose (Wright, 1988). Existem vários métodos de pré-tratamento da biomassa, incluindo procedimentos físicos e químicos, entretanto, os pré-tratamentos químicos são considerados relativamente os mais eficazes (Varga et al., 2002). Dentre esses, o pré-tratamento com ácido sulfúrico tem sido a escolha de vários autores para a remoção de hemicelulose e lignina (Vancov; McIntosh, 2012; Deshavath et al., 2017). Em razão disso, o pré-tratamento realizado neste trabalho foi com solução diluída de ácido sulfúrico, conforme Choudhary et al. (2013). De acordo com Vancov e McIntosh (2012), os pré-tratamentos com ácidos mais concentrados, por um tempo maior que 30 minutos e a uma temperatura maior que 121 °C proporcionam resultados de rendimentos de glicose também maiores, porém a proporção de compostos inibidores do processo de fermentação também é maior.

A conversão da biomassa pré-tratada dos diferentes genótipos de sorgo energia avaliados (Tabela 2) forneceu de 5,346 a 13,217 g.L⁻¹ de glicose, sendo que o genótipo 201552B0003 (*bmr*) foi o que mais se destacou e apresentou 13,217 g.L⁻¹ de glicose ao final de 72 h. É interessante notar que o genótipo BRS 511 (sacarino) apresentou comportamento muito semelhante ao genótipo 201552B18 (*bmr*) e também ao 201552B18 (*bmr*).

Os genótipos que apresentaram maiores teores de lignina na composição química, BRS716 (biomassa) e 201641B-138 (biomassa-sacarino), também apresentaram as menores taxas de hidrólise enzimática (5,35 e 7,37 g.L⁻¹ de glicose ao final de 72 h, respectivamente), como esperado.

O genótipo com menor teor de lignina, 201552B030 (*bmr*) apresentou o melhor resultado para a sacarificação enzimática da biomassa de sorgo, produzindo 0,166 g de glicose g⁻¹ de biomassa pré-tratada. Os genótipos 201552B18 (*bmr*) e BRS 511 (sacarino) também apresentaram valores elevados, respectivamente, 0,15 e 0,148 g de glicose g⁻¹ de biomassa pré-tratada.

Tabela 2. Concentração de glicose obtida após 72 horas de hidrólise enzimática para a biomassa de sorgo pré-tratada.

Genótipo	Glicose (g.L ⁻¹)	Glicose (g.g ⁻¹ de bio-massa pré-tratada) ¹
201552B003 (bmr)	13,217±0,651 c	0,166±0,008 d
201552B18 (bmr)	12,001±0,854 c	0,150±0,011 c
201641B-138 (bio-massa-sacarino)	7,367±0,748 b	0,092±0,009 b
BRS 511 (sacarino)	11,812±0,773 c	0,148±0,010 c
BRS 716 (biomassa)	5,346±1,128 a	0,067±0,014 a

¹Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ao nível 5% de probabilidade.

De acordo com a Figura 1, podemos observar que após 12 h o aumento do tempo de sacarificação tem um efeito moderado na concentração de glicose. Esses resultados estão em concordância com outros descritos na literatura, em que a concentração de glicose também foi maior no início do período de incubação (Eklund et al., 1990; Sreenath et al., 1999). Este comportamento pode ser explicado em função de alguns fatores que acontecem nesse processo, como a diminuição da quantidade da enzima adsorvida, a transformação da estrutura da celulose em forma menos suscetível à hidrólise e a inibição da ação da enzima pelos produtos da hidrólise acumulada (Lee; Fan, 1982).

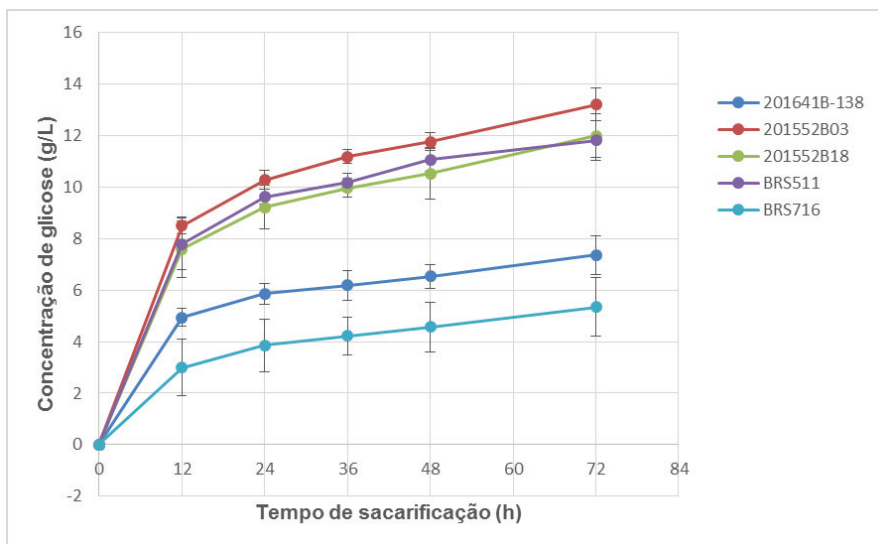


Figura 1. Concentração de glicose (g.L-1) em diferentes tempos de sacarificação da biomassa de sorgo.

Em condições similares de pré-tratamento, Vancov e McIntosh (2012) obtiveram 0,155 g de glicose por grama de palha de sorgo. Li et al. (2016) obtiveram após pré-tratamento ácido nestas mesmas condições 0,14 g de glicose por g de biomassa de sorgo sacarino. Choudhary et al. (2013) obtiveram 0,25 g de glicose por grama de biomassa seca, porém utilizando condições mais severas de pré-tratamento, com maior porcentagem de ácido sulfúrico e temperatura mais elevada, o que ocasionou também a formação de compostos inibidores do processo de hidrólise enzimática.

Resultados similares também foram obtidos utilizando processamento hidrotérmico na preparação de palha de trigo para hidrólise enzimática (Thomsen et al., 2006). ChongKhong e Tongurai (2018) obtiveram 0,098 g.g⁻¹ de glicose para a hidrólise de sabugo de milho utilizando micro-ondas como pré-tratamento (0,5% de H₂SO₄, 11 min, 900W de potência). Dessa forma, verifica-se que a temperatura de realização do pré-tratamento tem um grande impacto sobre a sacarificação enzimática, seguida pela concentração do ácido e tempo reacional.

Na Figura 2, observa-se que a redução da lignina teve um efeito altamente benéfico para o aumento da sacarificação enzimática da biomassa. O

rendimento de glicose obtido para os cinco genótipos de sorgo energia avaliados foram negativamente correlacionados com o teor de lignina ($R^2 = -0,877$).

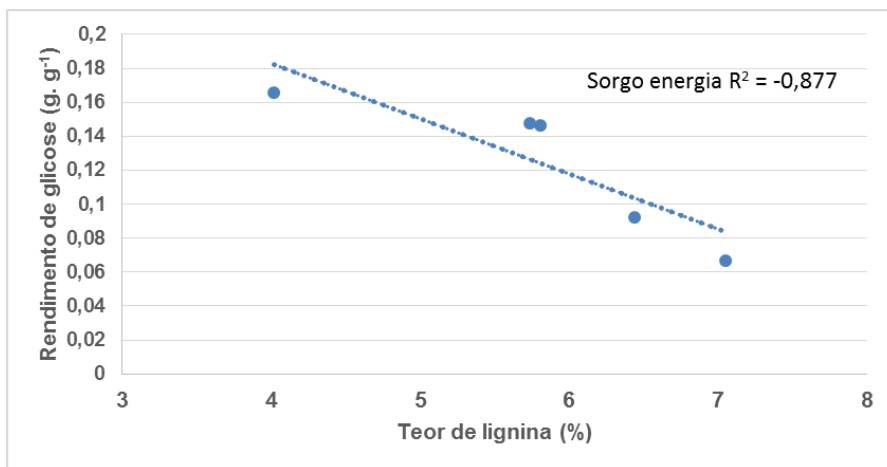


Figura 2. Rendimento de glicose para genótipos de sorgo energia com diferentes teores de lignina.

A lignina é a principal barreira que dificulta a hidrólise enzimática, o que pode ser observado pelo aumento no rendimento de glicose para os genótipos com menores teores de lignina. Quanto menos lignina presente na biomassa, maior eficiência de desestruturação da lignocelulose pelo pré-tratamento, menor adsorção de enzimas pela lignina e menor produção de componentes inibidores enzimáticos oriundos da sua degradação (Yu et al., 2011). Entretanto, outras propriedades baseadas na formação da parede celular e na bioconversão podem contribuir para a recalcitrância da biomassa e devem ser estudadas (Gilna et al., 2017).

Conclusões

A composição química do sorgo biomassa variou entre os genótipos avaliados, destacando-se os dois genótipos de sorgo biomassa *bmr* e sacarino (201552B003, 201552B1 e BRS 511, respectivamente) que apresentaram os menores teores de lignina, porém os genótipos *bmr* apresentaram maiores teores de hemicelulose. A conversão da biomassa pré-tratada em glicose foi

eficiente para os genótipos 201552B003 (*bmr*), 201552B18(*bmr*) e BRS511 (sacarino), sendo que o genótipo 201552B003 (*bmr*) destacou-se por apresentar o maior teor de glicose após 72 h de sacarificação (0,166 g.g⁻¹ de biomassa).

Esses resultados contribuem com informações importantes que poderão ser utilizadas para um aproveitamento máximo da eficiência de conversão da biomassa de sorgo como fonte de matéria-prima para a obtenção de açúcares fermentescíveis e na seleção de genótipos com características mais adequadas para a obtenção de etanol de segunda geração.

Referências

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

ANWAR, Z.; GULFRAZ, M.; IMRAN, M.; ASAD, M. J.; SHAFI, A. I.; ANWAR, P.; QURESHI, R. Optimization of dilute acid pretreatment using response surface methodology for bioethanol production from cellulosic biomass of rice polish. **Pakistan Journal of Botany**, v. 44, n. 1, p. 169-176, 2012.

CARDOSO, W. S.; TARDIN, F. D.; TAVARES, G. P.; QUEIROZ, P. V.; MOTA, S. S.; KASUYA, M. C. M.; QUEIROZ, J. H. de. Use of sorghum straw (*Sorghum bicolor*) for second generation ethanol production: pretreatment and enzymatic hydrolysis. **Química Nova**, v. 36, n. 5, p. 623-627, 2013.

CHANDRA, R. P.; BURA, R.; MABEE, W. E.; BERLIN, A.; PAN, X.; SADDLER, J. N. Substrate pretreatment: the key to effective enzymatic hydrolysis of lignocellulosics. **Biofuels**, v. 108, p. 67-93, 2007.

CHONGKHONG, S.; TONGURAI, C. Optimization of glucose production from corncob by microwave-assisted alkali pretreatment and acid hydrolysis. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 40, n. 3, p. 555-562, 2018.

CHOUDHARY, S. J.; MEHMOOD, S.; NAZ, H. Optimization of pretreatment conditions of sorghum bicolor straw, a substrate for bioethanol production: a

pilot study. **Pakistan Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 46, n. 2, p. 80-84, 2013.

DESHAVATH, N. N.; MOHAN, M.; VEERANKI, V. D.; GOUD, V. V.; PINNAMANENI, S. R.; BENARJEE, T. Dilute acid pretreatment of sorghum biomass to maximize the hemicellulose hydrolysis with minimized levels of fermentative inhibitors for bioethanol production. **Biotechnology**, v. 7, p. 139-150, 2017.

EKLUND, R.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Optimization of temperature and enzyme concentration in the enzymatic saccharification of steam-pretreated willow. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 2, p. 225-228, 1990.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

GILNA, P.; LYND, L. R.; MOHNEN, D.; DAVIS, M. F.; DAVISON, B. H. Progress in understanding and overcoming biomass recalcitrance: a BioEnergy Science Center (BESC) perspective. **Biotechnology for Biofuels**, v. 10, p. 285-291, 2017.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 10-18, 2009.

JÖNSSON, L. J.; MARTÍN, C. Pretreatment of lignocellulose: formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 103-112, 2016.

LEE, Y. H.; FAN, L.T. Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose: analysis of the initial rates. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 24, p. 2383-2406, 1982.

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) pre-treatment. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 1285-1292, 2010.

LI, P.; CAI, D.; ZHANG, C.; LI, S.; QIN, P.; CHEN, C.; WANG, Y.; WANG, Z. Comparison of two-stage acid-alkali and alkali-acid pretreatments on enzymatic saccharification ability of the sweet sorghum fiber and their

physicochemical characterizations. **Bioresource Technology**, v. 221, p. 636-644, 2016.

LLOYD, T. A.; WYMAN, C. E. Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 1967-1977, 2005.

MOSIER, N.; WYMAN, C.; DALE, B.; ELANDER, R.; LEE, Y. Y.; HOLTZAPPLE, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 673-686, 2005.

NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B. **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 313 p.

PARRELLA, R. A. da C.; SCHAFFERT, R. E.; MENEZES, C. B. de; RODRIGUES, J. A. S.; MAGALHÃES, J. V.; DAMASCENO, C. M. B.; SILVA, D. D. da; MENDES, S. M. Improving sorghum cultivation in South America. In: ROONEY, W. (Ed.). **Achieving sustainable cultivation of sorghum: sorghum utilization around the world**. Cambridge: Burleigh Dodds Science Publishing, 2018. v. 2, cap. 7, p. 159-192.

REDDY, B. V. S.; KUMAR, A. A.; RAO, P. S.; REDDY, P. S.; BLÜMMEL, M. Brown midrib sorghum for second-generation ethanol production. **Journal of Biotechnology**, v. 136, p. S213, 2008.

SAINI, J. K.; ANURAG, R. K.; ARYA, A.; KUMBHAR, B. K.; TEWARI, L. Optimization of saccharification of sweet sorghum bagasse using response surface methodology. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 211- 219, 2013.

SINGH, J.; SUHAG, M.; DHAKA, C. A. Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 624-631, 2015.

SREENATH, H. K.; KOEGEL, R. G.; MOLDES, A. B.; JEFRIES, T. W.; STRAUB, R. J. Enzymatic saccharification of alfalfa fibre after liquid hot water pretreatment. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 33-41, 1999.

THOMSEN, M.; THYGESEN, A.; JORGENSEN, H.; LARSEN, J.; CHRISTENSEN, B.; THOMSEN, A. Preliminary results on optimization of pilot scale pretreatment of wheat straw used in coproduction of bioethanol and

electricity. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.130, p. 448-460, 2006.

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

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. New York: Cornell University Press, 1994.

VARGA, E.; SZENGYEL, Z.; RECZEY, K. Chemical pretreatments of corn stover for enhancing enzymatic digestibility. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 98, p. 73-87, 2002.

ZHAO, Y. L.; DOLAT, A.; STEINBERG, Y.; WANG, X.; OSMAN, A.; XIE, G.H. Biomass yield and changes in chemical composition of sweet sorghum cultivars grown for biofuel. **Field Crops Research**, v. 111, p. 55-64, 2009.

ZHENG, Y.; PAN, Z.; ZHANG, R.; WANG, D. Enzymatic saccharification of dilute acid pretreated saline crops for fermentable sugar production. **Applied Energy**, v. 86, n. 11, p. 2459-2465, 2009.

YANG, B.; BOUSSAID, A.; MANSFIELD, S. D.; GREGG, D. J.; SADDLER, J. N. Fast and efficient alkaline peroxide treatment to enhance the enzymatic digestibility of steam-exploded softwood substrates. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 77, p. 678-684, 2002.

YU, B.; CHEN, H. Effect of the ash on enzymatic hydrolysis of steam-exploded rice straw. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 9114-9119, 2010.

YU, Q.; ZHUANG, X.; YUAN, Z.; WANG, W.; QI, W.; WANG, Q.; TAN, X. Step-change flow rate liquid hot water pretreatment of sweet sorghum bagasse for enhancement of total sugars recovery. **Applied Energy**, v. 88, p. 2472-2479, 2011.

WU, Z.; ZHANG, M.; WANG, L.; TU, Y.; ZHANG, J.; XIE, G.; ZOU, W.; LI, F.; GUO, K.; LI, Q.; GAO, C.; PENG, L. Biomass digestibility is predominantly affected by three factors of wall polymer features distinctive in wheat accessions and rice mutants. **Biotechnology for Biofuels**, v. 6, p. 183, 2013.

WRIGHT, J. D. Ethanol from biomass by enzymatic hydrolysis. **Chemical Engineering Progress**, v. 89, n. 8, p. 62-74, 1988.



Milho e Sorgo



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

