

Revista Brasileira de Engenharias

ISSN 3085-8089

vol. 1, n. 2, 2025

... ARTIGO 2

Data de Aceite: 04/12/2025

OBTENÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO A PARTIR DE TORTA DE BURITI (*MAURITIA FLEXUOSA* L.)

Nome Autor

Info autor

Nome Autor

Info autor



Todo o conteúdo desta revista está licenciado sob a Licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

Pedro Henrique de Oliveira Gomes

Mestre em Biocombustíveis
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais -
Campus Montes Claros, MG, Brasil

Paulo Henrique Fidêncio

Doutor em Química
Universidade Federal dos Vales de Jequitinhonha e Mucuri - Campus Diamantina
Diamantina, MG, Brasil

Mayara Cardoso Silva

Graduanda em Farmácia
Universidade Federal de São Paulo
São Paulo, SP, Brasil

João Victor Fiúza Maia

Graduando em Engenharia Química
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais -
Campus Montes Claros
Montes Claros, MG, Brasil

Robson Antônio Vasconcelos

Mestre em Alimentos e Saúde
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais -
Campus Montes Claros
Montes Claros, MG, Brasil

Resumo: Um substituto promissor dos combustíveis fósseis é o etanol obtido a partir de fontes vegetais, como cana-de-açúcar e milho, já utilizado como combustível puro ou em mistura com a gasolina, por exemplo, em países como o Brasil, Índia e Estados Unidos. O bioetanol pode ser produzido, também, a partir de materiais lignocelulósicos, uma vez que estes são constituídos de carboidratos complexos na forma de celulose, hemicelulose e amido. Um destino viável ou até rentável, que atenda as exigências ambientais é a obtenção de bioetanol a partir de coprodutos agroindustriais. Um destes é o buriti (*Mauritia flexuosa* L.), fonte de um óleo com alto teor de carotenos, representando, assim, aplicações em indústrias alimentícias, cosméticas e farmacológicas, resultando em acúmulo deste material. Sendo assim, ao verificarmos o teor de carboidratos disponíveis na forma livre e polimerizados, a partir de sua análise centesimal, foi feito tratamentos químicos com soluções de ácido diluído e base, em duas etapas distintas, a fim de promover a remoção da hemicelulose e lignina. Por fim foi feita a hidrólise com complexo enzimático de celulases, enzimas que hidrolisam cadeias celulósicas em monossacarídeos de glicose, substrato utilizado por microrganismos como a levedura *Saccharomyces cerevisiae* no metabolismo celular, tendo como produto excretado o etanol.

Palavras-chave: Biomassa. Pré-tratamento. Infravermelho.

Introdução

Biocombustíveis são compostos produzidos a partir de produtos agrícolas: “cana-de-açúcar, plantas oleaginosas, biomassa florestal e outras fontes de matéria orgâni-

ca”, sendo assim considerado um combustível renovável, tendo utilidade de forma isolada ou misturado aos combustíveis fósseis [1]. Um dos biocombustíveis é o etanol produzido a partir de uma fonte renovável, sendo classificado como bioetanol, obtido por “fermentação e destilação de matérias-primas com alto conteúdo de açúcares ou amido”, assim como a partir de “biomassas celulósicas” [2]. O Bioetanol é o considerado o substituto mais promissor para os combustíveis fósseis [3]. Após aumento significativo de produção em 2015 em relação ao ano anterior, entre janeiro e novembro de 2015 produziu cerca de 26,1 bilhões de litros, cerca de 21% a mais do produzido em 2014. Sendo que a estimativa para 2016 seja de 28,6 bilhões de litros [4].

O uso de biocombustíveis minimiza os impactos ambientais, uma vez que contribui para redução na emissão de carbono na atmosfera, impactando sobre o efeito estufa causado por estes gases, além de liberar 50% menos material particulado e 98% menos enxofre, serem biodegradáveis e não tóxicos [5].

A utilização de biomassa na produção de combustíveis alternativos tem maior vantagem econômica e ambiental frente a sua queima [6]. Outras vantagens apresentadas são a contribuição para a sustentabilidade de zonas rurais, alternativa de combustíveis para o mesmo setor e consumo de resíduos agroindustriais [7].

Paralelo ao aumento da demanda por biocombustíveis, têm-se, também, a crescente procura por biomassas oleaginosas, uma vez que os óleos são reconhecidos como fonte acessível de diversos nutrientes. Diversas pesquisas estão sendo realizadas a fim de caracterizar e otimizar a obtenção destes, seja na indústria alimentícia ou far-

macológica [8]. Um destes é o óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) palmeira nativa da América Latina, principalmente no Brasil [9]. É uma palmeira encontrada em regiões alagadas e úmidas do Centro, Norte e Nordeste do Brasil. O fruto é possui pró-vitaminas A, B, C e E, contendo ainda minerais de cálcio e ferro, tendo bastante aplicações em indústrias alimentícias e farmacológicas, o que, apesar de ser um fruto abundante, encarece seu óleo [10]. A extração do óleo é feita de forma mecânica e caseira, normalmente em agriculturas familiares e pequenas cooperativas, que repassam as empresas interessadas. Este processo “caseiro” de extração gera assim, uma quantidade considerável de resíduos conhecido como torta, que devido ao processo utilizado, muitas das vezes, fica inviável para consumo humano, resultando em seu acúmulo e eliminação inadequada.

Aliando o aumento pela procura e utilização do etanol, principalmente em sua forma hidratada, como combustível e a necessidades de valorizar resíduos agroindustriais gerados, como por exemplo a torta de buriti. Diversos estudos têm sido realizados a fim de converter os polissacarídeos lignocelulósicos em monômeros fermentáveis, desde transformações físicas diretas até processos químicos divididos em etapas. [11]

A celulose $[(C_6H_{10}O_5)_x]$ é um biopolímero, uma vez que é formado por unidades monoméricas de D-Glicose que se repetem ao longo de uma macromolécula, os monômeros se unem por ligações glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4) e o seu grau de polimerização é dependente de sua origem, em paredes celulares de plantas primárias este pode variar entre 5.000 a 7.000 unidades monoméricas de D-Glicose, enquanto que em madeiras este número pode variar entre 10.000 e 15.000. [12]

O segundo polissacarídeo mais abundante em células vegetais é a Hemicelulose [13]. Diferente da celulose, a hemicelulose é formada por diferentes unidades monoméricas, sendo classificada como heteropolímero, difere também em sua estrutura, uma vez que se apresenta, muitas vezes, ramificada, o que enfraquece as Ligações de Hidrogênio ocasionando em uma estrutura amorfa e mais reativa do que a celulose. Assim como a celulose, a hemicelulose possui suas unidades monoméricas ligadas por ligações glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4), no entanto, devido a sua estrutura, estas são mais facilmente hidrolisadas [11] [12].

Por fim, complementando a estrutura lignocelulósica, tem-se a lignina, esta representa cerca de 10 a 15% em massa do material lignocelulósico. Como não é constituído por carboidratos, todo processo de obtenção de bioetanol, gera-se este co-produto, uma vez que caracterizado como um biopolímero muito complexo de fenilpropano e grupos metoxílicos. Ou seja, uma substância polivenólica sem carboidratos que cobre as paredes celulares e as das células vizinhas. [13]

Materiais lignocelulósicos podem ser convertidos em bioetanol pelo pré-tratamento enzimático ou solução ácida, que hidrolisa os açúcares complexos e insolúveis em unidades de glicose, que podem, então, ser convertidas em etanol por ação de um agente fermentador. [14]

A hidrólise ácida de celulose e hemicelulose é um processo a muito conhecido e praticado devido a sua aplicação comercial, muitos estudos o consideram pelo baixo custo e buscam otimizá-lo, aumentando o seu rendimento. Uma das lacunas deste processo é a falta de trabalhos sobre os seus mecanismos e estudos cinéticos das reações,

uma vez que este é dificultado pela diversidade e complexidade do substrato, o material lignocelulósico, e a alta reatividade dos produtos formados. [15]

Um dos melhores métodos de converter biomassa em açúcares fermentáveis é a sacarificação enzimática, uma vez que esta requer baixa energia e gera menos resíduos contaminantes. No entanto, este processo é inviabilizado devido ao difícil acesso à celulose, uma vez que esta é fortemente associada à lignina. Sendo assim o pré-tratamento básico possui a finalidade de quebrar a lignina, tornando a celulose mais disponível à enzima. [16]

O pré-tratamento alcalino normalmente é realizada em condições mais moderadas do que os tratamentos ácidos, em termos de temperatura e pressão, tendo como principal efeito desejado a remoção da lignina da biomassa, aumentando a reatividade da fibra [14]. Além da lignina, soluções alcalinas solubilizam grupos acetilas e substituem diferentes ácidos urônicos que inibem a acessibilidade a celulose para a sacarificação enzimática [16].

Mesmo que se consiga hidrolisar frações diversas de celulose a partir do tratamentos com ácidos diluídos, o resultado ainda é muito aquém dos obtidos com tratamentos enzimáticos, também classificados como pré-tratamento biológico. [16]

Na hidrólise enzimática, as enzimas celulasas catalisam a conversão da celulose em glicose, possibilitando que a levedura fermente a glicose em bioetanol. [14]

Diversos microrganismo, assim como a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, metabolizam glicose e excretam etanol, chegando a rendimentos em torno de 92 a 95%, no entanto este fungo não metaboliza xilose

nem a arabinose, não apresentando, assim, eficiência para fermentar meio com alto teor de pentoses. No entanto, apresenta boa resistência a produtos obtidos durante os pré-tratamentos químicos. [17]

Ao final do processo de fermentação tem-se um produto conhecido como caldo, uma mistura de bioetanol, massa celular e água. O primeiro passo é recuperar o bioetanol em uma coluna de destilação, onde a maioria da água fica junto com a parte sólida no fundo da coluna. O produto, cerca de 37% de bioetanol, é concentrado em uma coluna de retificação, justo abaixo do ponto azeotrópico (95%). [14]

Neste trabalho, foi feita a análise a avaliação da torta de buriti como insumo na obtenção de etanol de segunda geração a partir de tratamentos químico, ácido e básico, e hidrólise enzimática. Realizando, por fim, a fermentação do caldo e análise do produto obtido. Fez-se, também a análise química dos hidrolisados gerados em cada etapa, assim como análise físico-química (estrutural e morfológica) dos resíduos gerados.

Metodologia

Caracterização da Torta

Após extração química, com éter etílico P.A., do óleo residual na torta de buriti, fez-se as caracterizações físico-químicas do farelo obtido. As análises foram: umidade [18], cinzas [18], extrato etéreo [18], proteína bruta [18], fibra bruta total [19], fibras solúveis em detergente ácido (FSDA) [20], fibras solúveis em detergente neutro (FSDN) [20], lignina [20], celulose e hemicelulose [20], açúcares solúveis totais [21], amido [21] e açúcares redutores [22].

Análise por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A identificação das estruturas químicas e grupos funcionais presentes na biomassa in natura e após cada tratamento, foram analisadas pela técnica da espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). O material foi prensado em pastilhas de Brometo de Potássio, KBr, e inseridas no Espectrofotômetro Varian modelo 640 IR (FTIR-ATR) para leitura.

Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV)

As amostras sólidas utilizadas em cada tratamento, moídas e secas, foram avaliadas por microscopia eletrônica por varredura a fim de observar modificações morfológicas durante o processo [22].

As fotomicrografias de MEV foram geradas em Microscópio Eletrônico de Varredura da HITACHI (modelo TM-3000). As amostras foram fixadas em suportes próprios (stub) com fita dupla face e analisados com ampliação de 1000x.

Difração de Raios X (DRX)

Os espectros de difração de raios X foram gerados a partir da biomassa inicial, a torta de buriti, e dos resíduos sólidos obtidos após cada tratamento realizado. Foram gerados, assim cinco espectros: torta in natura, farelo (torta pós extração química do óleo residual), resíduo obtido após o tratamento ácido, após o tratamento básico e após o tratamento enzimático (resíduo final).

A técnica de DRX é empregada a fim de avaliar as modificações na cristalinidade da celulose remanescente após cada trata-

mento. Assim foi utilizado um difratômetro de raios -X da marca SHIMADZU, modelo XRD-6000, empregando radiação CuK α com comprimento de onda (λ) de 1,54056 Å (40 kV e 30 mA), e velocidade de varredura de 2° min⁻¹, no intervalo de 2 θ = 20 – 80°.

O índice de cristalinidade da celulose (IC%) foi calculado segundo equação [23]:

$$\% IC = \left(\frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \right) \times 100 \quad (1)$$

Sendo:

I002 – Intensidade no pico cristalino analisado

I_{am} – Intensidade no pico amorfo analisado

Tratamento químico e enzimático

A amostra foi colocada em tubo cônico contendo solução de Ácido Sulfúrico (H₂SO₄) 4,5% (m/v) em razão sólido-líquido de 50%, o sistema foi incubado em autoclave à 120°C por 50 minutos.

O resíduo sólido obtido do tratamento ácido foi submerso em solução de Hidróxido de Sódio (NaOH) 4,5% (m/v) em razão sólido-líquido de 10%. Este sistema foi tamponado e imergido em banho à 85°C por 06 horas.

Por fim, o resíduo sólido obtido do último tratamento foi imergido em solução tampão ácido acético/acetato (pH 5) em razão sólido-líquido de 20%, contendo 60 µL de complexo enzimático por grama de

amostra, submerso em banho a 50°C por 12 horas.

Fermentação

Em um erlemmeyer foi incubado o hidrolisado obtido após tratamento enzimático em presença da levedura *Saccharomyces cerevisiae* comercial (marca Fleischmann®), adquirida em mercado em Montes Claros, na proporção de 1% (m/v). O sistema foi submerso em banho à 30°C.

Após o fim da fermentação o meio foi filtrado em papel de filtro, sendo a fração líquida guardada para destilação e a sólida seca em estufa.

Análise Qualitativa no CG-EM

Preparo das amostras para headspace estático

Para a análise de etanol por headspace, 1 µL da amostra foi transferida para um frasco de vidro de 20 mL, com tampa de alumínio e septo de silicone/teflon próprio para a técnica. E seguida, o frasco foi levado ao forno para headspace e submetido a aquecimento de 50°C por 5 min sob agitação contínua a 500 rpm. Para cada amostra, 250 µL da fase vapor foram imediatamente recolhidos com seringa HD-Type Syringe Plunger de 2 mL (HAMILTON, USA) e injetados no cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM). A seringa foi mantida aquecida a 50°C para evitar condensação do vapor no interior e a limpeza realizada com fluxo de hélio (99,9998%) por 20 s.

Análises Cromatográficas

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC 7890A) equipado com detector de ionização por impacto de elétrons (MS5975C) e coluna capilar DB-5MS (Agilent Technologies, 30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura do filme). Foi utilizado gás Hélio (99,9998% de pureza) como gás de arraste a uma taxa de 1 mL min⁻¹. Utilizando um auto injetor (CTC combiPal), 250 µL de amostra foi injetada no cromatógrafo a uma razão de split 1:100. O injetor split/splitless foi mantido a 200°C. A coluna cromatográfica inicialmente a 40°C, isoterma por 1,2 min, foi aquecida a uma taxa de 20°C min⁻¹ até 50°C, permanecendo por 1,2 min, foi aquecida a uma taxa de 20°C min⁻¹ até 50°C, permanecendo por 2,3 min. Após a separação dos compostos a temperatura foi elevada até 300°C permanecendo por 2 min (post run) para limpeza do sistema. A temperatura da interface foi mantida a 280°C. A ionização realizada com impacto de elétrons a 70 eV. A fonte de íons mantida a 230°C e a aquisição de dados realizada pelo monitoramento seletivo do íon 31 (m/z) correspondente ao mais abundante do etanol (modo MIS)

Análise Quantitativa

Teor Alcoólico

O teor alcoólico do destilado foi determinado por Teste com Dicromato de Potássio, em tubo de ensaio colocou-se 300 µL do destilado e 3 mL de solução de Dicromato de Potássio a 0,1 M preparado em solução de ácido sulfúrico a 5,0 M, o sistema foi deixado em repouso por 15 min e a

leitura realizada em aparelho Espectrofotômetro em 590 nm. Fez-se uma curva analítica com Etanol PA como padrão em 0, 0,5, 1,0 e 1,5% (v/v).

Fator de rendimento de produção (Y_{p/s})

O fator de rendimento de produção de etanol foi obtido calculando a relação massa de etanol (g) produzida e massa de glicose (g) totais consumidos [24]. A equação utilização foi:

$$Y_{\frac{p}{s}} = \frac{\Delta P}{\Delta S} = \frac{P - P_i}{S - S_i} \quad (2)$$

Sendo:

P – Concentração de produto final (g/L)

P_i – Concentração do produto inicial (g/L)

S – Concentração de substrato final (g/L)

S_i – Concentração de substrato inicial (g/L)

Eficiência fermentativa (E_f)

Relação entre o rendimento em produto do processo (Y_{p/s}) e o rendimento teórico (0,511g de etanol/g de açúcar) [24]:

$$E_f = \frac{Y_{\frac{p}{s}}}{0,511} \cdot 100 \quad (3)$$

Resultados e Discussão

Caracterização Química

Os resultados obtidos das análises químicas da Torta de Buriti podem ser vistos na Tabela 01. É importante destacar os teores de açúcares solúveis totais (AST), amido, celulose e hemicelulose, uma vez que estes simbolizam fontes de carboidratos, totalizando 46,49% em massa. Ou seja, cada tonelada de torta de buriti tem potencial para disponibilizar 464,9 kg de carboidratos que podem ser convertidos em etanol.

O valor de lipídeos obtido na análise da torta após extração química, com éter etílico, do óleo residual remanescente da extração mecânica foi de 4,35%. Ou seja, este teor foi obtido do material após ter sofrido duas etapas de extração, mecânica e química, classificado como farelo, demonstrando alto teor de óleo do fruto e corroborando para o aumento de sua utilização como fonte deste. No entanto, na literatura, não se encontra composição química da torta do buriti, e no caso do fruto, os resultados publicados não consideram as diferenças morfológicas e químicas entre as variedades, assim como seus estágios de maturação e umidade, resultando em dados discrepantes [25]. Por exemplo, Carneiro e Carneiro (2011) [26] encontraram teores de lipídeos de 18,16% para o fruto in natura e 51,67% para o fruto desidratado, enquanto que Mariath et al (1989) [27] encontrou 8,1% no fruto in natura.

Análises	Teores (%)
Umidade	8,1 ± 0,2
Cinzas	6,95 ± 0,5
Lipídeos	4,35 ± 0,48
Proteínas	4,40 ± 0,06

Fibra bruta	33,12 ± 0,09
FSDA	46,48 ± 0,27
FSDN	49,03 ± 0,11
AST	2,92 ± 0,48
Amido	2,61 ± 0,05
Celulose	38,40 ± 0,77
Hemicelulose	2,56 ± 0,38
Lignina	7,80 ± 0,73

FSDA – Fibras Solúveis em Detergente Ácido;
FSDN – Fibras Solúveis em Detergente Neutro;
AST – Açúcares Solúveis Totais

Tabela 01 Composição centesimal da torta de buriti obtida pela extração mecânica, após lavagem com éter etílico.

A tabela 02 apresenta a composição centesimal de fibras e carboidratos em outras tortas (Dendê, algodão e Macaúba) a fim de confrontar com os valores obtidos a partir da torta de buriti. Ressaltamos o valor encontrado para celulose, em que a torta de buriti apresenta o maior percentual, e para o valor de lignina, em que esta apresenta maior valor apenas em comparação à torta de Macaúba. Estes dados corroboram para o potencial da utilização da torta de buriti para obtenção de etanol de segunda geração.

Análise físico-química dos resíduos sólidos obtidos após cada tratamento

Ao fim de cada tratamento, selecionou-se a melhor condição e repetiu o processo com uma quantidade maior de biomassa. Aos resíduos sólidos obtidos fez-se análises de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Microscopia por Varredura (MEV), os resultados são apresentados nos itens a seguir.

Parâmetros	Torta de Dendê ¹	Torta de caroço de algodão ²	Torta de Macaúba ³	Torta de buriti
Fibra Bruta	24,29 ± 0,24	25,83 ± 0,26	8,7 ± 0,3	33,12 ± 0,09
AST	4,56 ± 0,11	4,92 ± 0,35	8,19 ± 0,63	2,92 ± 0,48
Amido	5,02 ± 0,35	2,02 ± 0,18	23,37 ± 0,5	2,61 ± 0,05
FSDA	72,01 ± 1,38	42,18 ± 0,36	11,7 ± 0,25	46,48 ± 0,27
FSDN	80,92 ± 0,66	57,37 ± 1,15	21,1 ± 0,3	49,03 ± 0,11
Celulose	32,47 ± 0,11	30,39 ± 1,39	10,08 ± 0,8	38,40 ± 0,77
Hemicelulose	11,13 ± 0,60	15,19 ± 1,49	9,43 ± 0,15	2,56 ± 0,38
Lignina	41,65 ± 2,29	11,79 ± 1,02	0,38 ± 0,04	7,80 ± 0,73

Tabela 02 Composições centesimais de fibras e carboidratos em diferentes tortas.

FONTE: ¹ FERREIRA, Crisley, 2013 [28]; ² SILVA, Alexandre, 2012 [24]; ³ SANTOS, 2011 [29].

FTIR

Esta foi realizada a fim de detectar mudanças em grupos funcionais da biomassa ao longo dos tratamentos realizados. A partir de dados obtidos na literatura, é possível atribuir grupos a alguns picos presentes, como características principais atribuídas a diferentes grupos químicos presentes na celulose, hemicelulose e lignina [26]. Por exemplo, a banda larga observada na faixa de 3500 a 3000 cm⁻¹ representa deformação axial de O-H em ligação de hidrogênio intermolecular [27], característico de celulose, hemicelulose e lignina [8].

As figuras 01 e 02 apresentam os espectros das frações sólidas desde a torta do buriti in natura até o resíduo sólido obtido após a fermentação. Em ambas é possível perceber a evolução dos processos a partir de mudanças sutis ou expressivas entre cada etapa.

Os picos observados na faixa entre 3000 e 2800 cm⁻¹ representa deformação axial de C-H de cadeia alifática característica do óleo residual presente na amostra [26] [30] [31]. Picos fracos na faixa de 2400 a 2200 podem representar alquinos mono e dissustituídos, no entanto não foi encon-

trado nenhuma referência que justificasse estes picos nesta região. O pico observado em 1744 cm⁻¹ também foi observado em espectros do óleo de buriti atribuído à ligações de alongamento de grupos carboxílicos, C=O, aparecendo em torno da mesma frequência de ésteres metílicos e triglicerídeos [26] [31].

O pico observado em 1604 cm⁻¹ pode ser atribuído a deformação axial assimétrica de íons carboxilatos [27], COO⁻, presente em ácidos graxos. Esta pode estar acoplado à picos de carbonila característica de hemicelulose, que também ocorre nesta região [32]

A faixa entre 1500 e 900 corresponde a vibrações de uma variedade de ligações, tais como C-H e C-O, podendo representar uma grande família de ésteres e ácidos orgânico. Ou seja, absorções que podem ser atribuídas a presença de grupos presentes no óleo residual, celulose, hemicelulose, lignina e/ou outros componentes da biomassa [26]. O pico forte em 1016 cm⁻¹ pode ser atribuído a alongamento de ligação C-O em celulose e hemicelulose [26].

O espectro FTIR do farelo de buriti, torta após “lavagem” com éter etílico. Neste, destacamos a diminuição significativa dos

picos na faixa de 2900 a 2800 cm^{-1} , decorrente a remoção do óleo residual da amostra e a permanência de picos principais em aproximadamente 1598 e 1015 cm^{-1} [26].

O espectro do resíduo sólido obtido após o tratamento ácido. Em confronto com o espectro do farelo de buriti é possível observar a redução de intensidade de todos os picos, provavelmente decorrente da perda de frações deste durante o pré-tratamento ácido. No entanto, alguns picos permanecem com o mesmo formato e na mesma região do espectro, indicando que estes grupos ainda estão presentes na biomassa.

O espectro de FTIR do resíduo sólido obtido após a tratamento com solução alcalina, apresenta algumas diferenças em relação ao espectro apresentado após o tratamento ácido. Neste, a banda na faixa de 3500 e 3000 cm^{-1} apresenta maior intensidade, esta pode ser devido a remoção de parte da massa da amostra, concentrando os componentes remanescente, dentre eles a celulose, que apresenta ligações O-H, com ligações de hidrogênio, que pode ser atribuído a esta banda.

Além disto, os dois picos observados próximos a 2362 cm^{-1} também aparecem mais proeminentes, absorções nesta região normalmente são atribuídas a vibrações envolvendo nitrogênio [27], sendo assim, uma das justificativas é a presença de proteínas modificadas, que podem ter reagido durante os tratamentos químicos e formado algum produto que se manteve no material.

O pico que outrora foi observado em aproximadamente 1628 cm^{-1} , não aparece neste espectro. Este pico foi atribuído a deformação de íons carboxilatos acoplado a picos de carbonila, que também absorvem nesta região do espectro. No entanto, com-

postos aromáticos também pode absorver nesta faixa, o que justificaria sua ausência, uma vez que a lignina foi, em sua maioria, removida do material. [27]

O espectro de FTIR obtido a partir do resíduo sólido gerado após tratamento enzimático. Dentre os pontos a destacar no espectro, tem-se a redução da intensidade da banda na faixa de 3500 a 300 cm^{-1} , provavelmente decorrente da redução de compostos com grupos atribuídos a esta absorção, dentre eles a celulose. No entanto, a presença desta sugere que no resíduo ainda permanecem componentes com grupos O-H com interações de ligação de hidrogênio, podendo ser celulose ou outro carboidrato remanescente.

Em 1636 e 1501 cm^{-1} aparecem dois picos, o primeiro é atribuído a absorção de O-H e C-O conjugado, enquanto que o segundo é atribuído a alongamento C=C aromático caracterizando a presença de lignina [26]. Ambos podem ser decorrente a presença de lignina remanescente no material.

Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV)

A técnica da MEV foi utilizada para avaliar as mudanças morfológicas na biomassa, torta de buriti e demais resíduos sólidos, após cada pré-tratamento. Nas imagens é possível perceber a perda de camadas externas, com função protetora, contribuindo para remoção e solubilização de componentes do material.

A imagem A (figura 03) é possível observar a cristalinidade do material da parede protetora externa, uma vez que esta foi feita da torta de buriti, material in natura. Na imagem B, a parede continua presente, uma vez que está é do farelo do buriti, ou seja,

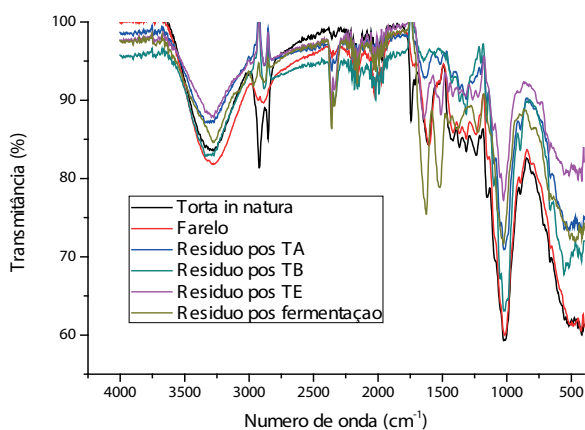


Figura 01 Sobreposição dos espectros FTIR de frações sólidas em todos os estágios do processo de obtenção do etanol.

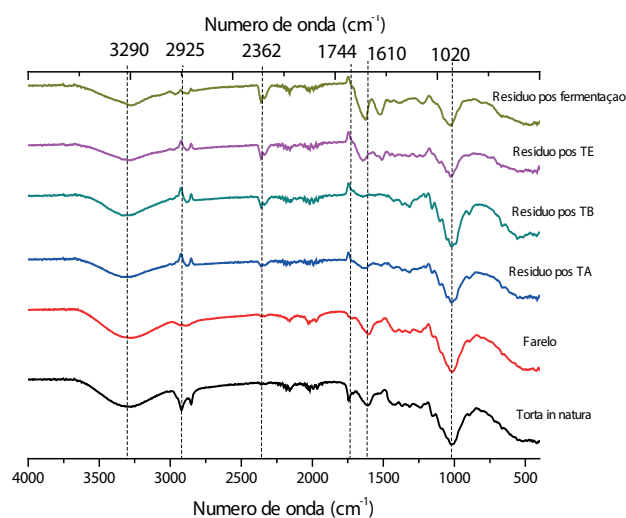


Figura 02 Espectros obtidos após cada tratamento realizado na torta in natura, sendo que farelo é o resíduo sólido após “lavagem” da torta com éter étílico; TA - tratamento ácido; TB - tratamento básico; TE - tratamento enzimático.

o material após extração química do óleo residual, sendo assim, neste processo não objetiva-se alterar a morfologia do material, apenas remover um componente já externo.

Já nas figuras C, D e E, fica evidente o efeito dos tratamentos, em que na imagem do resíduo sólido obtido após o tratamento ácido (C) é possível observar algumas frações amorfas no material. Assim como na fotomicrografia gerada pelo resíduo após o tratamento básico, que apresenta forma de agregados amorfos, evidenciando a solubilização de componentes que conferem resistência e rigidez estrutural ao material in natura.

Por fim, na imagem E, obtida do material após todos os tratamentos químicos e enzimáticos evidencia o efeito significativo na morfologia e na microestrutura original da torta causados pelos pré-tratamentos químicos e enzimáticos.

As imagens geradas foram importantes para análise das modificações morfológicas e fisiológicas ocorridas na torta de buriti após cada tratamento. Contudo, a interpretação das fotomicrografias foi dificultada pela complexidade e heterogeneidade do material. Sendo assim, os conhecimentos prévios dos tratamentos realizados, e demais análises realizadas a partir de outras técnicas instrumentais são essenciais na análise de MEV.

DRX

A figura 04 apresenta os espectros de DRX do material na forma in natura até o resíduo obtido após o tratamento enzimático a fim de analisar as modificações quanto à cristalinidade da celulose. O espectro referente a torta in natura apresenta uma banda larga na região entre 18 e 24°, resultado das

associações dos componentes celulose, hemicelulose e lignina [33].

Após tratamentos em materiais ligno-celulósicos, observa-se a formação de “ombros” próximo a 12 e 32°, como é observado no espectro referente ao farelo após sofrer tratamentos ácidos e básicos (setas azuis). O que, de acordo com autor, “podem ser relacionadas com a solubilização de materiais amorfos (hemicelulose e lignina) e com a transformação da celulose em outras formas cristalinas”. [33]

No espectro referente ao resíduo obtido após os pré-tratamentos ácido, básico e enzimático houve um deslocamento do ângulo de difração para região próxima a 19°, que pode ser devido a transformação da celulose de tipo I (antes dos processos de hidrólises) para tipo II. Segundo Lengowski et al [36] isto é comum em processos que envolvem aquecimento.

A tabela 03 apresenta os índices de cristalinidades relativas (%IC) para os materiais analisados. O aumento observado da celulose cristalina nos resíduos obtidos após os tratamentos ácido e básico é justificado pela remoção de materiais amorfos, hemicelulose pelo primeiro e lignina no segundo.

Após o tratamento enzimático, observa-se pequena redução da razão IC em relação ao resíduo anterior; no entanto, devido ao deslocamento do ângulo observado, pressupõe-se que esta seja referente à cristalinidade de celulose tipo II, e para este o ângulo de difração da fração amorfa é entre 13 e 15°, e a fração cristalina entre 18 e 19°.

Os dados apresentados, assim, demonstram que o constituinte celulósico remanescente, não hidrolisado, está em sua maioria na forma cristalina. Mesmo que com intensidade menor.

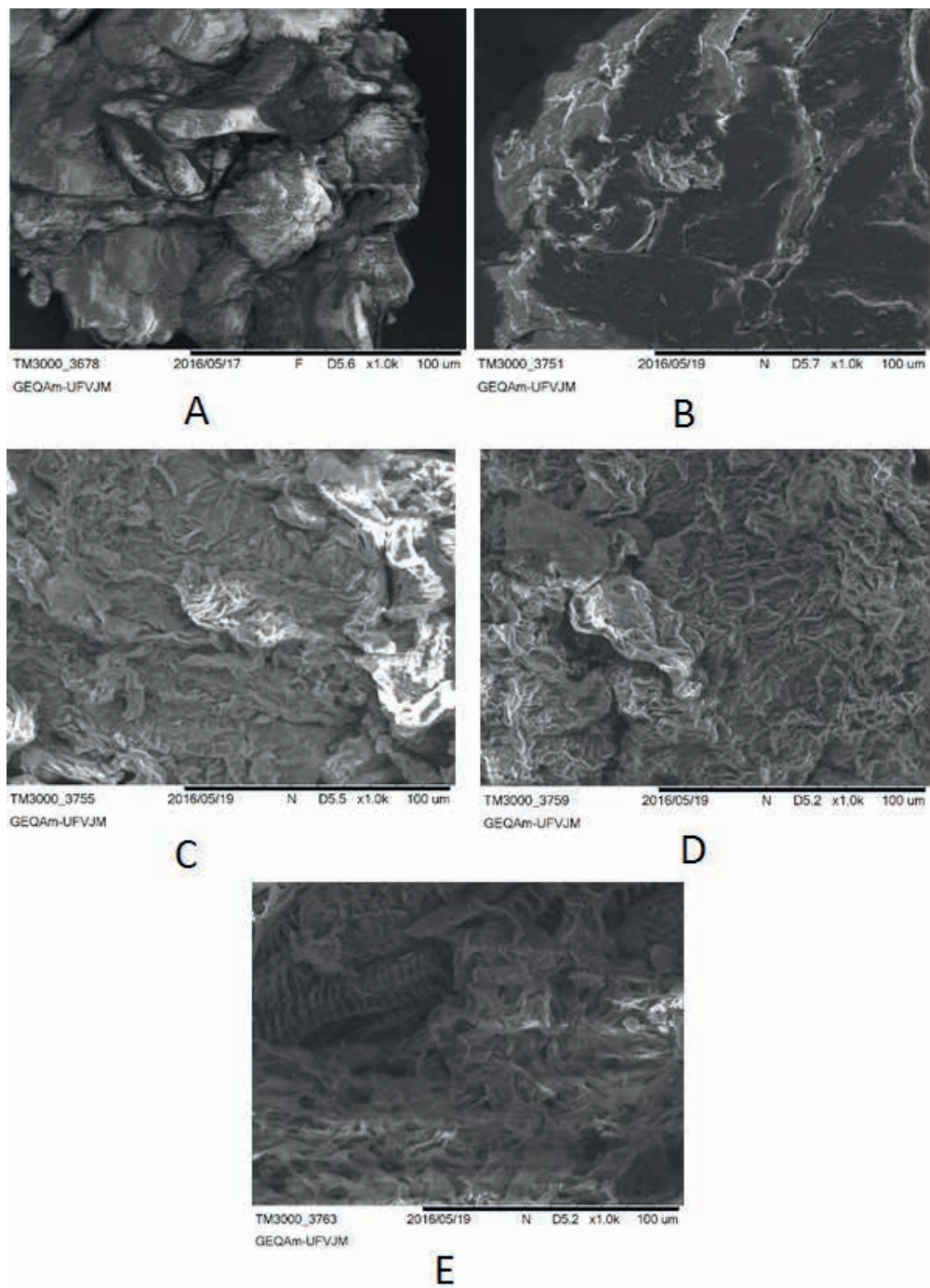


Figura 03 Fotomicrografias da biomassa ao longo do processo de obtenção de biotanol: A - Torta; B - Farelo; C - Resíduo pós TA; D - Resíduo pós TB; E - Resíduo pós TE.

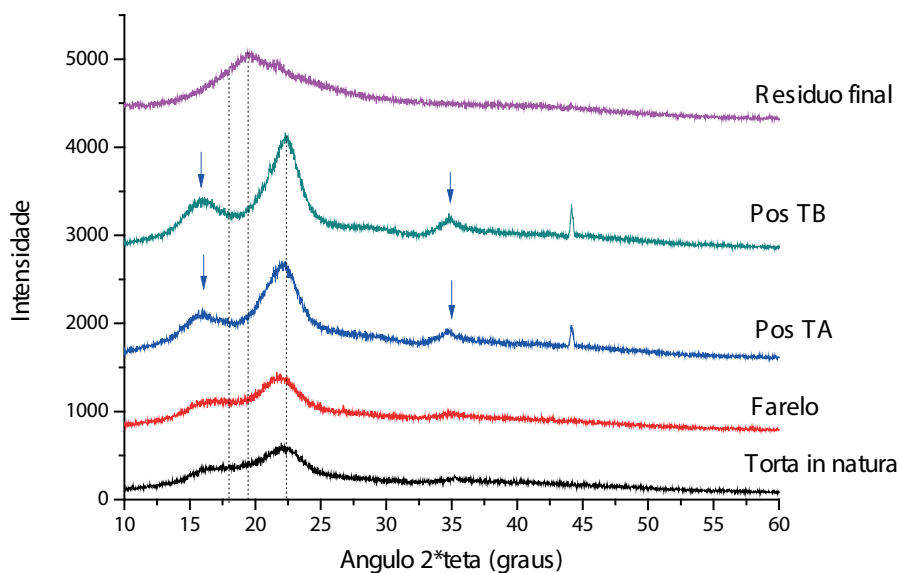


Figura 04 Difractogramas de raios X de amostras dos resíduos obtidos, desde a torta in natura até o resíduo fermentado.

Material analisado	IC (%)
Torta in natura	36,15
Farelo	35,14
Resíduo do tratamento ácido	56,92
Resíduo do tratamento básico	65,68
Resíduo final	60,18

Tabela 03 Índices de Cristalinidade calculado a partir dos espectros de raios X.

Massa de Glicose inicial (g)	Massa de glicose final (g)	Massa de glicose fermentada (g)	Massa de etanol teórica (g)
15,272	0,342	15,238	7,771

Tabela 04 Relação de massa de glicose e de álcool produzido (considerando $Y_{p/s} = 0,51$)

Rendimento do processo de hidrólise e fermentação

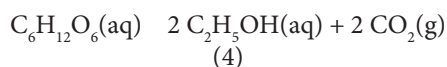
Após análise com kit para quantificação de Glicose da Bioclin, do hidrolisado obtido após o tratamento enzimático, observou-se um rendimento de 53,58% (massa glicose liberada/massa da amostra utilizada), demonstrando um teor próximo do esperado, considerando que:

O teor de celulose estimado na caracterização da torta foi aproximadamente 38% (m/m), no entanto esta tem sua concentração aumentada diante da remoção de constituintes da biomassa;

O rendimento obtido nos ensaios para esta etapa, na melhor das condições, superou a casa dos 60% (m/m).

Com relação ao teor inicial, já era esperado uma perda de material, uma vez que durante o tratamento químico ficou evidente a ocorrência de hidrólise de pequenas frações de carboidratos estruturais.

Considerando a equação de reação de conversão da glicose em etanol:



A conversão total da glicose liberada poderia gerar até 3463,6 litros de etanol por tonelada de resíduo obtido após pré-tratamento químico e tratamento enzimático. Ressaltamos que este não é o quantitativo a partir da torta in natura, infelizmente não foi possível obter uma relação de rendimento do processo tomando como ponto de partida a massa inicial, uma vez que, a fim de reproduzir condições análogas em todos os tratamentos as amostras utilizadas para os ensaios de cada tratamento eram obtidas do montante tratado. Ou seja, ao selecionar a melhor condição de um determinado trata-

mento, tratava-se todo o material com este e do material tratado tirava-se amostras para os ensaios do próximo tratamento. Assim o substrato de todos os ensaios e tratamentos tinham o mesmo substrato como ponto de partida.

Considerando o volume de hidrolisado obtido do tratamento enzimático, e o teor de glicose antes e após fermentação, foi possível estimar uma produção de 7,771 g de etanol ($Y_{p/s} = 0,51$), tabela 04.

A levedura utilizada se mostrou eficiente, uma vez que metabolizou cerca de 76% da glicose disponível.

A quantificação do etanol produzido foi feita utilizando uma curva analítica de etanol PA como padrão, e os resultados estão organizados na tabela 05.

O processo fermentativo apresentou um rendimento, $Y_{p/s}$, igual a 0,43, abaixo dos 0,51 teórico, no entanto, consideramos este resultado bom, uma vez que apresentou um rendimento percentual de 84,72% de conversão de glicose disponível em etanol. Com este rendimento uma tonelada de resíduo tratado pode gerar 2934,36 litros de etanol.

Nas figuras 05 e 06 são apresentados cromatogramas a fim de certificar a presença de etanol e outros solventes no produto fermentado.

A figura 36 apresenta o cromatograma em que se fez a injeção de Etanol PA a fim de verificar a melhor condição para realizar a análise da amostra, observando um tempo de retenção de 1,63 min. Ao injetar a amostra do destilado obtido da fermentação, nas mesmas condições, observa-se um pico com o mesmo tempo de retenção (figura 06), evidenciando a produção de etanol tendo como ponto de partida a torta de buriti.

Absorbância média	Teor alcoólico (%v/v)	Concentração alcoólica (mL/L)	Volume de etanol produzido (mL)	Massa de etanol produzida (g)
0,530	1,098	10,980	8,345	6,584

Tabela 05 Resultado obtidos para produção de etanol.

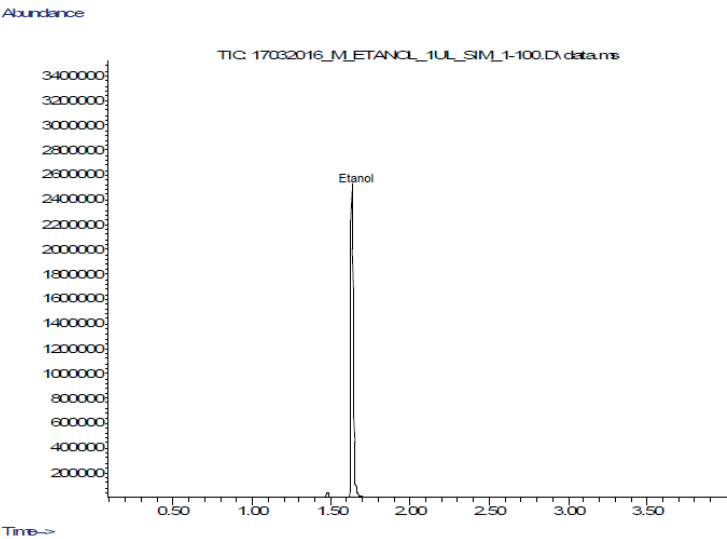


Figura 05 Cromatograma do etanol PA.

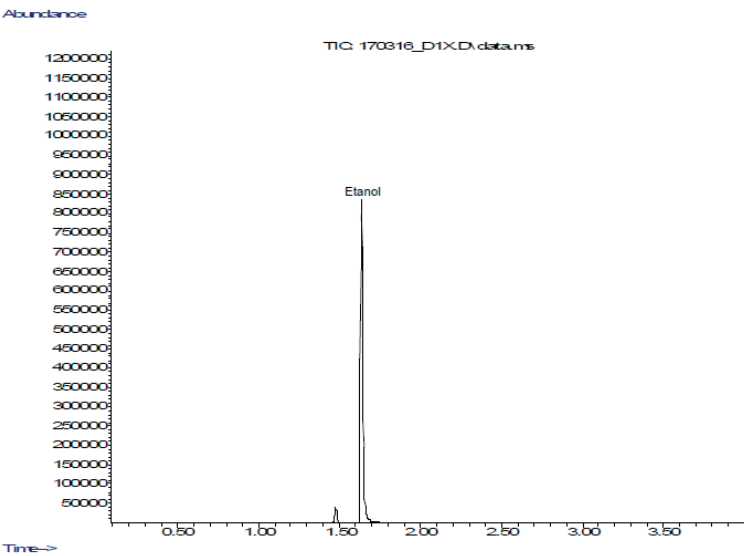


Figura 06 Cromatograma da amostra.

Conclusão

A torta de buriti apresentou cerca de 46,50% de carboidratos, tendo a fração celulósica apresentado um teor aproximado de 38,0%, representando um potencial na produção de etanol lignocelulósico. O teor de lignina, em torno de 7,0%, é muito menor que diversos outros materiais, contribuindo para a redução de custo e energia no processo de tratamento e posterior sacarificação da biomassa.

A metodologia adotada para tratar e sacarificar a biomassa se mostrou eficiente, uma vez que o produto desejado foi obtido. No entanto, esta não possibilitou inferir o rendimento real do processo, uma vez que não possibilitou estabelecer uma relação entre teor alcoólico obtido e quantidade de torta in natura utilizada.

Como foi verificado nos espectros de infravermelho e nas imagens obtidas na Difração de Raios-X os tratamentos se mostraram eficazes, uma vez que alteraram as estruturas químicas e físicas do material de forma a disponibilizar açúcares ao meio. No entanto a presença de celulose do tipo II demonstra que o processo ainda pode ser otimizado.

As fotomicrografias obtidas a partir da técnica de MEV apresentaram informações complementares as análises químicas e estruturais (FTIR e DRX) realizadas, em que ficou evidente a alteração morfológica e fisiológica do material após cada tratamento realizado.

Considerando a quantidade de biomassa utilizada no tratamento enzimático e o teor alcoólico obtido, o processo se mostrou eficaz, possibilitando um rendimento ($Y_{p/s}$) de 0,43.

Sendo assim, considerando ser um resíduo do processo de extração de óleo, a torta de buriti se mostrou uma biomassa em potencial na produção de bioetanol.

Com estes resultados, faz-se necessário continuar o estudo e o trabalho com esta biomassa. Por apresentar baixo teor de lignina, acredita-se que seja necessário realizar o tratamento básico, levando a uma economia de reagentes. Além disso, deve-se realizar teste com outros pré-tratamentos físicos, físico-químicos e biológicos a fim de analisar melhores metodologias e relação custo benefício. Assim como um estudo da viabilidade do processo em grande escala e execução junto à Cooperativa Grande Sertão a fim de beneficiar as comunidades rurais que geram este coproduto.

AGRADECIMENTOS

This work was apoiado pelo Instituto Federal do Norte de Minas Gerais e a Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, MG. Além disso, contou com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) processo APQ-04337-16.

Referenciais

- [1] SRIVASTAVA, Neha; RAWAT, Rekha; HARINDER, Singh Oberoi; RAMTEKE, Pramod W. A review on fuel ethanol production from lignocellulosic biomass. *International Journal of Green Energy*, 2015; 12: 949-960.
- [2] INGLEDEW, W. M. Bioconversions: Fuel Ethanol. *Encyclopedia of Biotechnology in Agriculture and Food*, 2011: 91-94.

- [3] SUN, Shaomi; SUN, Shaolong; CAO, Xuefei; SUN, Runcang. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic material. *Bioresource Technology*, 2016; 199: 49-58.
- [4] ZAFALON, Mauro. Após “ano do etanol”, produção poderá chegar a 28,6 bi de litros em 2016/17. Folha de São Paulo, 08 de jan de 2016. Disponível em: <https://www.novacana.com/n/etanol/mercado/ano-do-etanol-producao-chegar-28-6-bi-litros-2016-17-080116/>. Acesso em: 22.06.2016
- [5] POMPELLI, M. F. et al. Crise energética mundial e o papel do Brasil na problemática de biocombustíveis. *Agronomia Colobiana*, 2011; 29 (2): 231-240.
- [6] KUANG, Yonghong; ZHANG, Yongjun; ZHOU, Bin; LI, Cangying; CAO, Yijia; LI, Lijuan; ZENG, Long. A review of renewable energy utilization in islands. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2016; 59: 504-513.
- [7] SILVA, J. M.; KONRADT-MORAES, L. C. Vantagens e desvantagens dos biocombustíveis e dos combustíveis fósseis. In: SEMINÁRIO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA – SEMEX, 10., 2012. *Anais...* n. 5, 2012
- [8] NEHDI, Imededdine Arbi. Characteristics and composition of *Wahingtonia filifera* (Linden ex André) H. Wendl. seed and seed oil. *Food Chemistry*, 2011; 126: 197-202.
- [9] CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) from the Cerrado and Amazon Biomes. *Food Chemistry*, 2015; 177: 313-319.
- [10] SILVA, G. M. Pré-tratamento do Bagaço de Cana de Açúcar com Amônia Aquosa para Produção de Etanol. 2011. 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2011.
- [11] NEGAHDAR, Leila; DELIDOVICH, Irina; PALKOVITS, Regina. Aqueous-phase hydrolysis of cellulose and hemicelluloses over molecular acidic catalysts: Insights into the kinetics and reaction mechanism. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2016; 184: 285 – 298.
- [12] OGATA, Bruna Harumi. Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e pontencial de uso em biorrefinarias. 109 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2013.
- [13] FERREIRA, Vitor F.; ROCHA, David R. Pontencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. *Química Nova*, 2009; 32 (3): 623-638.
- [14] LORA, Electo Eduardo Silva; VENTURINI, Osvaldo José. *Biocombustíveis*. vol. 1. Rio de Janeiro: Interciência, 2012.
- [15] SANTOS et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. *Química Nova*, 2012; 35 (5): 1004-1010.
- [16] MOOD, Sohrab H., et al. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2013; 27: 77-93.
- [17] MORETTI, M. M. de S. *et al.* Pretreatment of sugarcane bagasse with microwaves irradiation and its effects on the structure and on enzymatic hydrolysis. *Applied Energy*, 2014; 122: 189-195.
- [18] INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz; v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4ª ed. São Paulo: IMESP, 2008.
- [19] KAMER, Van de; GINKEL, Van. Rapid determination of cruser fiber in cereals. *Cereal Chemistry*, 1952; 29 (4): 239-251, Oct/Dec.

[20] VAN SOEST, P. J. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. J. Assoc. Official Agr. Chem, 1970; 51: 780-785.

[21] MCCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; SILVIERA, V.; OWENS, H.S. Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas. Analytical Chemistry, 1950; 22: 1156-1158.

[22] VASCONCELOS, NaMCtália Moura de; PINTO, Gustavo A. Saavedra; ARAGÃO, Fernando A. de Souza. Determinação de Açúcares Redutores pelo Ácido 3,5-Dinitrosalicílico: Histórico do Desenvolvimento do Método e Estabelecimento de um Protocolo para o Laboratório de Bioprocessos. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 88. Embrapa Agroindústria Tropical: 2013.

[23] ZÚÑIGA, Ursula Fabiola Rodrigues. *Desenvolvimento de um bioprocesso para produção de celulases específicas na cadeia produtiva do etanol de segunda geração*. 2010, 228 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Universidade de São Paulo. São Carlos: 2010.

[24] SILVA, Alexandre A. Otimização do pré-tratamento ácido de torta de caroço de algodão e bagaço de malte com farinha de pupunha para produção de bioetanol de segunda geração. 2012. 94 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2012.

[25] TAVARES, M. et al. Composição química e estudo anatômico dos frutos de buriti do município de Buritizal, Estado de São Paulo. Instituto Adolfo Lutz, 2003: 227-232.

[26] CARNEIRO, T. B.; CARNEIRO, J. G. de M. Frutos e polpa desidratada buriti (*Mauritia flexuosa* L.): Aspectos físicos, químicos e tecnológicos. Verde, 2011; 6 (2): 105-111.

[27] MARIATH, J. G. R., et al. Vitamin A activity of buriti (*Mauritia vinifera* Mart) and its effectiveness in the treatment and prevention of xerophthalmia. The American Journal of Clinical Nutrition, 1989, 49 (5): 849-853.

[28] FERREIRA, Crisley Mara de Azevedo. Avaliação da torta de dendê para produção de bioetanol de segunda geração. 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina. 2013.

[29] SANTOS, Hilton Túlio Lima. Avaliação da torta de macaúba como insumo para produção de bioetanol. 2011. 87 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2011.

[30] XIÃO, Ling-Ping; SUN, Zhao-Jun; SHI, Zheng-jun; SUN, Run-Cang. Impact of hot compressed water pretreatment on the structural changes of woody biomass for bioethanol production. BioResources, 2011: 1576-1598

[31] SILVERSTEIN, Robert M; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 7ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2010.

[32] ALBUQUERQUE, M. L. S.; GUEDES, I.; JR, P. Alcantara; MOREIRA, S. G. C. Infrared absorption spectra of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil. Vibrational Spectroscopy. 2013; 33:127 – 131.

[33] DÍAZ-MUÑOZ, L. L.; BONILLA-PETRICIOLET, A.; REYNEL-ÁVILA, H. E.; MENDOZA-CASTILLO, D. I. Sorption of heavy metal ions from aqueous solution using acid-treated avocado kernel seeds and its FTIR spectroscopy characterization. Journal of Molecular Liquids; 2016; 215: 555 – 564.

[34] AKHTAR, Nadeem; GOYAL, Dinesh; GOYAL, Arun. Physico-chemical characteristics of leaf litter biomass to delineate the chemistries involved in biofuel production. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2016; 62: 239-246.

[35] ZÚÑIGA, Ursula Fabiola Rodrigues. **Desenvolvimento de um bioprocesso para produção de celulases específicas na caeia produtiva do etanol de segunda geração.** 2010, 228 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Universidade de São Paulo. São Carlos: 2010.

[36] LENGOWSKI, Elaine Cristina; MUNIZ, Graciela Ines Bolzon; NISGOSKI, Silvana; MAGALHÃES, Washington Luiz Esteves. Avaliação de métodos de obtenção de celulose com diferentes graus de cristalinidade. Scientia Forestalis, 2013; 41 (98): 185-194