



UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Pós-graduação em Biocombustíveis

Pedro Henrique de Oliveira Gomes

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA TORTA DE BURITI (*Mauritia flexuosa* L.) PARA
OBTENÇÃO DE BIOETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO**

**Diamantina – MG
2016**

Pedro Henrique de Oliveira Gomes

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA TORTA DE BURITI (*Mauritia flexuosa* L.) PARA
OBTENÇÃO DE BIOETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Fidêncio.

**Diamantina – MG
2016**

Ficha Catalográfica-Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecária Adriane Gaia
CRB11-873

G633a 2016	<p>Gomes, Pedro Henrique de Oliveira Avaliação do Potencial da Torta de Buriti (<i>Mauritia Flexuosa</i> L.) Para Obtenção de Bioetanol de Segunda Geração /Pedro Henrique de Oliveira Gomes – Diamantina: UFVJM, 2016. 81 p.:il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Fidêncio</p> <p>Dissertação (Mestrado em Biocombustíveis) – Programa de Pós Graduação em Biocombustíveis. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.</p> <p>1. Biomassa 2. Pré - Tratamento 3. Análise Físico - química I. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 662.88</p>
---------------	---

Elaborada com dados fornecidos pelo (a) autor (a)

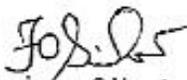
Pedro Henrique de Oliveira Gomes

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA TORTA DE BURITI (MAURITIA FLEXUOSA L.) PARA OBTENÇÃO DE BIOETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

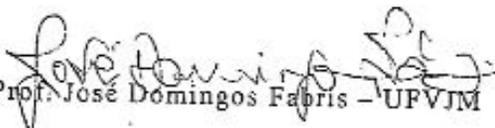
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis, nível de Mestrado, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

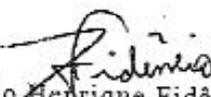
Orientador:
Prof. Dr. Paulo Henrique Fidêncio

Data da aprovação 19/08/2016


Prof. Flaviano Oliveira Silvério - IFMG


Prof. Alexandre Soares dos Santos - UFVJM


Prof. José Domingos Fabris - UFVJM


Prof. Paulo Henrique Fidêncio - UFVJM

UF dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
CONFERE COM O ORIGINAL
Data 19/08/16

SERVIDOR

Adriana Kátia dos Santos
Técnica em Assuntos Educacionais
SIAPE nº 1572690
PRPPG/UFVJM

Diamantina

“A persistência é o menor caminho do êxito”.

(Charles Chaplin)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela inspiração, força, perseverança, paciência e, acima de tudo, oportunidade de realizar tantas conquistas.

Agradeço a minha família, minha esposa que esteve ao meu lado por todo este tempo e meus filhos que, mesmo de forma inconsciente, tiveram paciência e compreenderam os momentos de ausências.

Aos meus pais e irmãos que contribuíram na formação do sujeito em que me tornei, sem eles, com certeza, não estaria aqui, e por isso tenho muito o que agradecer e retribuir.

Aos amigos próximos ou distantes que contribuíram para a realização desse trabalho, às contribuições valiosas de Sônia Arruda, Rodrigo Gandra, Claudimar Junker, Daniel Resende, Sandra Damasceno, Philipe Brito e Adailton Santos. Aos discentes Mayara Cardoso e João Victor Fiuza, que me acompanharam ao longo dos experimentos.

Agradeço ao Professor Paulo Henrique Fidêncio por ter aceito o desafio de me orientar na realização deste trabalho. Aos professores Alexandre Soares, José D. Fabris, Flaviano Silvério e David L. Nelson por participarem de nossa qualificação e defesa, contribuindo com críticas e observações relevantes.

Agradeço à Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri que através do curso de pós-graduação em biocombustíveis possibilitaram minha qualificação profissional. E, por fim, e de uma forma especial, ao Instituto Federal do Norte de Minas Gerais que colaborou e contribuiu para a concretização desse trabalho.

RESUMO

O bioetanol pode ser produzido a partir de materiais lignocelulósicos, que são constituídos de carboidratos complexos na forma de celulose, hemicelulose e amido, ampliando as possibilidades de fontes de energias alternativas. Uma dessas são os resíduos agrícolas, como as tortas, coprodutos de processos de extração mecânica de óleos de frutos, sementes e cereais (oleaginosas), que representam um desafio por muitas vezes não possuírem um destino viável ou até rentável que atenda as exigências ambientais. Um desses é o buriti (*Mauritia flexuosa* L.), fonte de um óleo com alto teor de carotenóides representando, assim, aplicações em indústrias alimentícias, cosméticas e farmacológicas e resultando em acúmulo de seu material. O trabalho foi desenvolvido a partir da torta de buriti obtida após extração mecânica de seu óleo. Foi verificado que a torta é constituída por aproximadamente 44% de sua massa por carboidratos livres ou polimerizados. Foram realizados 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 celulasas, 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. Após a hidrólise enzimática, obteve teores de 53,58% (m/m) de glicose liberada do farelo tratado, apresentando um rendimento em torno de 60% (m/m). Com a fermentação do hidrolisado, obtido após o tratamento enzimático, foi verificada a obtenção de etanol em rendimento (fator de conversão de substrato em produto, Y_p/s) de 0,43 em relação à quantidade de substrato utilização na hidrólise enzimática. O produto obtido foi analisado em cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massa, confirmando a obtenção de bioetanol. Além disso, foram realizadas medidas de microscopia eletrônica por varredura e difratometria de raios-X, verificando alterações na estrutura física e morfológica do material ao longo do processo. Por fim, ratificou-se a possibilidade de aplicar a torta de buriti na obtenção de etanol de segunda geração.

Palavras-chave: Biomassa. Pré-tratamento. Análise físico-química.

ABSTRACT

Bioethanol can be produced from lignocellulosic materials, that are made up of carbohydrate complexes in the form of cellulose, hemicellulose and starch, expanding the possibilities of alternative energy sources. One of these are agriculture residues, such as pies, co-products of mechanical extraction processes of fruit oils, seeds and cereals (oil), which represent a challenge in many times do not possess a viable or even profitable destination that meets the environmental requirements. One of these is the buriti (*Mauritia flexuosa* L.), source of an oil with high content of carotenes, representing thus, applications in food industries, cosmetic and pharmaceutical, resulting in accumulation of its material. The work was developed from the buriti pie obtained after mechanical extraction of its oil. It was verified that the pie is comprised by approximately 44% of its mass by free carbohydrates or polymerized. Chemical treatments were performed with dilute acid solutions and base in two distinct steps in order to promote the removal of hemicellulose and lignin. Finally, the hydrolysis was done with the enzyme complex of cellulases, enzymes that hydrolyze cellulose chains in monosaccharide glucose, a substrate used by microorganisms such as *Saccharomyces cerevisiae* yeast in cell metabolism, with ethanol as the product excreted. After enzymatic hydrolysis, it was obtained content of 53.58% (m/m) of glucose released from the treated bran, showing a yield around 60% (m/m). With the fermentation of the hydrolyzate obtained after the enzymatic treatment was verified obtaining of ethanol in yield (substrate conversion factor in product, Y_p / s) of 0.43 compared to the amount of substrate used in the enzymatic hydrolysis. The obtained product was analyzed in a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer, confirming obtaining bioethanol. In addition, were carried out measures of scanning electron microscopy and X-ray diffraction, checking changes in physical and morphological structure of the material throughout the process. Finally, ratifies the possibility of applying the buriti pie in getting second-generation ethanol.

Keywords: Biomass. Pretreatment. Chemical physical analysis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Fórmula estrutura da molécula de etanol (ou álcool etílico).....	111
Figura 2 Fórmula estrutural da glicose (α -D-Glicopiranosose)	188
Figura 3 Fórmula estrutura da sacarose, a direita tem se um monômero de glicose, e a esquerda o da frutose.	188
Figura 4 Esquema representativo da estrutura lignocelulósica em uma parede celular de uma planta.	19
Figura 5 Representação da palmeira (a) e do fruto buriti (<i>Mauritia flexuosa</i> L.) (b):	20
Figura 6 Fórmula estrutural da celulose.	22
Figura 7 Estrutura linear da celulose, as linhas pontilhadas representam as possíveis ligações de hidrogênio.	23
Figura 8 Fórmula estrutural parcial da fração hemicelulose.	23
Figura 9 Representação estrutural parcial da lignina.....	24
Figura 10 Esquema ilustrando o efeito esperado de pré-tratamento no material lignocelulósico	25
Figura 11 Fórmula estrutural de (a) ácido vanílico e (b) siringaldeído	29
Figura 12 Esquema representativo da atuação do complexo enzimático celulase sobre a celulose.	30
Figura 13 Reação utilizada para a determinação espectrofotométrica de açúcares pelo método DNS.	41
Figura 14 Sistema montado para fermentação, no Erlenmeyer a direita tem-se o meio fermentativo (hidrolisado e levedura), conectado ao recipiente a esquerda com água, impossibilitando a entrada de oxigênio no primeiro.	44
Figura 15 Fluxograma das atividades realizadas no item metodologia.....	47
Figura 16 Curva analítica de glicose para análise de AR, AST e amido.....	49
Figura 17 Espectro no IV da torta de buriti in natura.	52
Figura 18 Espectro no IV do farelo de buriti, após extração do óleo residual com éter etílico.....	53
Figura 19 Curva analítica de glicose para análise de AST no hidrolisado obtido após o tratamento ácido.	54
Figura 20 Curva analítica de glicose para análise de AR no hidrolisado obtido após tratamento ácido.	55
Figura 21 Curva analítica de ácido gálico para análise de polifenóis no hidrolisado obtido após a tratamento básico.....	57

Figura 22 Curva analítica de glicose para análise de AR no hidrolisado obtido após o tratamento básico.....	58
Figura 23 Curva analítica de glicose para análise de glicose no hidrolisado obtido após o tratamento básico.....	59
Figura 24 Curva analítica de glicose para análise de AR no hidrolisado obtido após o tratamento enzimático.....	61
Figura 25 Espectro no IV do resíduo sólido obtido após o tratamento ácido.....	63
Figura 26 Espectro no IV do resíduo sólido obtido após o tratamento básico.	63
Figura 27 Espectro no IV do resíduo sólido obtido após o tratamento enzimático.....	64
Figura 28 Espectros no IV obtidos após cada tratamento realizado: A - torta in natura, B – farelo, resíduo sólido após "lavagem" da torta com éter étílio; C – resíduo sólido pós tratamento ácido; D – resíduo sólido pós tratamento básico; E – resíduo sólido pós tratamento enzimático.....	65
Figura 29 Fotomicrografias da biomassa ao longo do processo de obtenção de biotenoil: A - Torta; B - Farelo; C - Resíduo pós TA; D - Resíduo pós TB; E - Resíduo pós TE.	67
Figura 30 Difractogramas de raios X de amostras dos resíduos obtidos, desde a torta <i>in natura</i> até o resíduo fermentado.....	69
Figura 31 Curva analítica de etanol PA como padrão para quantificação de etanol pelo teste de dicromato de potássio.	70
Figura 32 Cromatograma do etanol PA.	71
Figura 33 Cromatograma da amostra.	73
Figura 34 Espectro no IV do resíduo sólido após fermentação.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Relação biomassas e indicadores de relevância energético-ambiental.....	13
Tabela 2 Condições analisadas para tratamento ácido.	39
Tabela 3 Procedimento para análise de glicose.	41
Tabela 4 Condições para análise de tratamento básico.	42
Tabela 5 Condições para análise de tratamento enzimático.	43
Tabela 6 Composição centesimal da torta de buriti obtida pela extração mecânica, após lavagem com éter etílico.	49
Tabela 7 Composições centesimais de fibras e carboidratos em diferentes tortas.	50
Tabela 8 Projeção estequiométrica da produção de etanol em litros por tonelada.	51
Tabela 9 Resultados da análise de açúcares solúveis totais no hidrolisado obtido após o tratamento ácido.	54
Tabela 10 Resultados da análise de açúcares redutores no hidrolisado obtido após o tratamento ácido.	55
Tabela 11 Resultados da análise de glicose no hidrolisado obtido após o tratamento ácido ...	56
Tabela 12 Resultados da análise de polifenóis no hidrolisado obtido após o tratamento básico.	58
Tabela 13 Resultados da análise de açúcares redutores no hidrolisado obtido após o tratamento básico.	59
Tabela 14 Resultados da análise de glicose no hidrolisado obtido após o tratamento básico. .	60
Tabela 15 Resultados de glicose no hidrolisado obtido após o tratamento enzimático.	61
Tabela 16 Resultados da análise de açúcares redutores no hidrolisado obtido após o tratamento enzimático.	61
Tabela 17 Índices de Cristalinidade calculado a partir dos espectros de raios X.	69
Tabela 18 Análise de glicose no hidrolisado obtido após tratamento enzimático em sua melhor condição.	69
Tabela 19 Relação de massa de glicose e de álcool produzido (considerando $Y_{p/s} = 0,51$) ...	71
Tabela 20 Resultado obtidos para produção de etanol.	71

SUMÁRIO

1	Introdução	11
2	Referencial Teórico	12
2.1	Biocombustíveis.....	12
2.1.1	Contexto Histórico	15
2.1.2	Perspectivas	16
2.1.3	Bioetanol	17
2.2	Bioetanol de Segunda Geração ou Lignocelulósico	18
2.2.1	Biomassas.....	19
2.2.2	Complexo Lignocelulósico	21
2.2.3	Pré-tratamentos.....	25
2.2.4	Recuperação do produto.....	31
3	Metodologia.....	31
3.1	Análise centesimal	32
3.1.1	Umidade	32
3.1.2	Cinzas	32
3.1.3	Lipídeos ou Extrato Etéreo.....	33
3.1.4	Proteínas	33
3.1.5	Fibra Bruta.....	34
3.1.6	FDA – Fibras Insolúveis em Detergente Ácido	35
3.1.7	FDN – Fibras Insolúveis em Detergente Neutro.....	35
3.1.8	Celulose.....	36
3.1.9	Lignina	37
3.1.10	Hemicelulose	37
3.1.11	AST e amido.....	37
3.1.12	Análise por espectroscopia no infravermelho	38
3.1.13	Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV)	38
3.1.14	Difração de Raios X (DRX).....	38
3.2	Tratamento Ácido	39
3.3	Tratamento Básico	42
3.4	Tratamento Enzimático	43
3.5	Fermentação	44

3.5.1 Análise Qualitativa no CG-EM.....	45
3.5.2 Análise Quantitativa.....	46
4 Resultados e Discussão.....	49
4.1 Análise centesimal.....	49
4.2 Análise das condições aplicadas em cada tratamento.....	54
4.2.1 Tratamento Ácido.....	54
4.2.2 Tratamento Básico.....	58
4.2.3 Tratamento Enzimático.....	61
4.3 Análise físico-química dos resíduos sólidos obtidos após cada tratamento.....	63
4.3.1 Infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF).....	63
4.3.2 Microscopia Eletrônica por Varredura (MEV).....	67
4.3.3 Difração de raio-X (DRX).....	69
4.4 Rendimento do processo de hidrólise e fermentação.....	70
5 Considerações Finais.....	75
Referências bibliográficas.....	76