

Universidade de Brasília



**ESTUDO DA OBTENÇÃO DE AÇÚCARES A PARTIR DA
HEMICELULOSE ORIUNDA DO TINGUI (*Magonia
pubescens*), VISANDO A PRODUÇÃO DE XILITOL**

ARTHUR VINÍCIUS DE OLIVEIRA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Orientador (a): Sarah Silva Brum

Co-orientadora (a): Ana Carolina M. Vieira

Brasília, 2018

**ESTUDO DA OBTENÇÃO DE AÇÚCARES A PARTIR DA
HEMICELULOSE ORIUNDA DO TINGUI (*Magonia
pubescens*), VISANDO A PRODUÇÃO DE XILITOL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado para a
obtenção do título de bacharel em de Química
Tecnológica da Universidade de Brasília.

Prof.(a) Orientadora: Sarah Silva Brum

Brasília, 2018

Dedico este trabalho a minha avó Djanira Maria Firmino (in memorian), meus irmãos, Alan de Oliveira Neto (in memorian) e Luciana Aline de Oliveira, meus pais, Valter de Oliveira e Angelita Mariano de Oliveira que sempre me incentivaram a dar meu melhor e sempre procurar realizar meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por este presente maravilhoso que é a vida, pelas pessoas que o Senhor colocou em meu caminho, pois muitas delas me inspiram, me ajudam, me desafiam e me encorajam a ser cada dia melhor. Agradeço também por todas as coisas que me aconteceram, cada uma delas, ao seu modo, me fizeram chegar onde eu cheguei.

Aos meus pais, Valter de Oliveira e Angelita Mariano de Oliveira, que me conduziram pelos caminhos certos da vida e me amam incondicionalmente. Em especial a minha mãe que sempre esteve ali para me escutar, aconselhar e puxar minha orelha.

Ao meu irmão Alan, que hoje brilha no céu, a eterna saudade que sempre sentirei de você, do seu sorriso, de suas piadas e seu carisma. E minha querida e amada irmã Luciana, que sempre cuidou de mim na infância e em minha vida universitária, obrigado por toda a dedicação e carinho.

Ao meu sobrinho lindo Luís Augusto, a luz deixada por meu irmão, você é como meu filho e sempre estarei aqui para te apoiar.

A minha querida orientadora Sarah Silva Brum, a quem só tenho admiração, carinho e respeito. Me apaixonei pelo seu trabalho e pela sua pessoa lá no primeiro semestre da graduação e só tenho a agradecer por toda a paciência, pelos ensinamentos e pela oportunidade de ter trabalhado em sua equipe desde a iniciação científica.

A minha querida co-orientadora Ana Carolina Martins Vieira que desde a primeira iniciação científica me recebeu de braços abertos, e mesmo eu não sabendo muito, me cativou a expandir meus conhecimentos, me deixou colocar a mão na massa e aprender com a prática. Obrigado pela dedicação e o carinho.

A equipe de Tecnologia de Conversão de Biomassa (Ana Carolina Honório, Marielly Lemes, Victor Pacheco e Valéria Ferreira), obrigado pelos conselhos, troca de experiências e apoio neste trabalho.

A equipe do Laboratório de Materiais e Combustíveis - LMC (Maria Betânia, Karolyne Vilela, Carlos Magno, Ruana Brandão, Antônio Martins) por todo o carinho e ajuda prestados neste trabalho.

Aos meus amigos de curso e semestre (Daniel Reis, Dryade Ferreira, Amanda Monteiro, Jhonnata Silva, Bianca Novaes, Sabrina Tardin, Priscila Veras, Nayara Azevedo, Isabella Resende, Fabiana Machado, Ana Carolina Magalhães, Laila Lopes, Richard Klepter e Stefanny Sampaio) obrigado pelas risadas, apoio, choros, pizzas, lasanhas, bolos e tudo mais que aprontamos durante essa graduação, sem vocês em minha vida eu não teria chegado até aqui e quero contar com a amizade de vocês para o resto de minha vida.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Árvore do tingui e fruto maduro.	16
Figura 2: Gel Purificado com agente oxidativo clorado.	18
Figura 3: Esquema da estrutura da xilana.	19
Figura 4: Produtos brasileiros que contêm xilitol.	20
Figura 5: Fluxograma das tecnologias para produção de xilitol a partir da matéria-prima lignocelulósica demonstrando as rotas química e biotecnológica.	21
Figura 6: Envoltório <i>in natura</i> do tingui após separação da semente	22
Figura 7: A) Gel formado no envoltório da semente após intumescimento, B) Gel úmido, C) Gel após secagem.	23
Figura 8: Gel seco e moído.	24
Figura 9: Gel (esquerda) separado do envoltório (direita).	27
Figura 10: Estágios da purificação do gel.	28
Figura 11: Gel Purificado e lavado.	28
Figura 12: Esquema das reações que ocorrem durante a hidrólise ácida de materiais lignocelulósicos.	29
Figura 13: Materiais hidrolisados com 0,5% H ₂ SO ₄ a 120 °C: (A) 60min, (B) 120 min, (C) 180 min; 1,0% H ₂ SO ₄ a 120 °C: (D) 60 min, (E) 120 min, (F) 180 min; 1,0% HCl a 120°C: (G) 180 min; 2,0% H ₂ SO ₄ a 120 °C: (H) 60 min, (I) 120 min, (J) 180 min.	30
Figura 14: Teor de glicose x tempo de reação das hidrólises do gel purificado.	31
Figura 15: Rendimento de glicose (%) x reação das hidrólises do gel purificado.	33
Figura 16: Glicose na forma linear e cíclica com destaque ao carbono anomérico.	33
Figura 17: Açúcares Redutores Totais - ART x tempo de reação das hidrólises do gel purificado.	34
Figura 18: Rendimento de ART (%) x reação das hidrólises do gel purificado.	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização dos componentes: envoltório <i>in natura</i> e gel.....	17
Tabela 2 – Condições utilizadas nas reações de hidrólise.....	25

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ART – Açúcares Redutores Totais

HCl – Ácido Clorídrico

H₂SO₄ – Ácido Sulfúrico

PVC – Policloreto de Vinila

v/v – Relação entre volume e volume

RESUMO

A conversão de biomassa vegetal em produtos químicos e energia é essencial a fim de sustentar o nosso modo de vida atual. O Cerrado apresenta uma grande riqueza de espécies que podem ser consideradas “plantas do futuro”, ainda subutilizadas por comunidades locais, sendo o Tingui (*Magonia pubescens*) uma delas. Essa planta é capaz de produzir um gel natural cuja função principal no meio ambiente é a germinação, mas por sua composição rica em carboidratos, pode ser empregada em rota de produções de produtos de maior valor agregado, como o xilitol. O xilitol, um poliál com poder adoçante semelhante ao da sacarose, anticariogênico, tolerado por diabéticos e recomendado em dietas é importante para as indústrias alimentícia e farmacêutica. É produzido, em grande escala, por hidrogenação catalítica da xilose presente em hidrolisados lignocelulósicos. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi desenvolver metodologia para a produção de uma solução rica em monômeros de açúcar a partir do gel purificado do Tingui, estudando as condições de hidrólise com ácido sulfúrico em diferentes concentrações e tempo de reação. O gel foi extraído via úmida do envoltório que envolve a sementes do tingui e foi purificado com solução de agente oxidante. As reações de hidrólise foram realizadas em autoclave, à temperatura de 120 °C, com solução de ácido sulfúrico e ácido clorídrico. Os hidrolisados foram analisados quanto ao teor de glicose e açúcares redutores totais, com rendimento máximo em açúcares, 33%, alcançado para a hidrólise do gel purificado em solução de H₂SO₄, 1,0%, por 180 minutos.

Palavras-chave: tingui, gel, purificação, hidrólise, açúcares, xilitol.

ABSTRACT

The plant biomass conversion to chemicals and energy is essential to sustain our current way of life. The Cerrado presents a great wealth of species that can be considered "plants of the future", still underutilized by local communities, with Tingui (*Magonia pubescens*) being one of them. This plant is capable of generating a natural gel whose main function in the environment is the germination, but because of its rich carbohydrate composition, can be employed in the route of production of products of higher benefit, such as xylitol. Xylitol, a sucrose-like, anticaryogenic, diabetic-tolerated, diets-appropriate polyol is important for the food and pharmaceutical industries. It is produced on a large scale by catalytic hydrogenation of xylose present in lignocellulosic hydrolysates. Thus, the objective of this work was to develop methodology to production of a solution rich in sugar monomers from the tingui purified gel, studying the hydrolysis conditions with sulfuric acid at different concentrations and reaction time. The gel was wet extracted from the wrapping surrounding Tingui seeds and purified with oxidizing agent solution. The hydrolysis reactions were performed in an autoclave at 120 °C with sulfuric acid and hydrochloric acid solution. The hydrolysates were analyze for glucose content and total reducing sugars, with maximum yield in sugars, 33%, achieved for the hydrolysis of the purified gel in 1.0% H₂SO₄ solution for 180 minutes.

Keywords: tingui, gel, purification methods, hydrolysis, sugars, xylitol.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
1. OBJETIVOS	14
1.1. OBJETIVO GERAL	14
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 POTENCIAL QUÍMICO DO CERRADO	15
2.2 TINGUI E SUAS CARACTERÍSTICAS	16
2.3 XILANAS	18
2.4 XILITOL	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1 COLETA DA MATÉRIA PRIMA	22
3.2 EXTRAÇÃO ÚMIDA	22
3.3 MOAGEM	23
3.4 PURIFICAÇÃO DO GEL	24
3.5 HIDRÓLISE ÁCIDA	25
3.6 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE GLICOSE	26
3.7 AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
4.1 ESTUDO DA EXTRAÇÃO ÚMIDA	27
4.2 ANÁLISE DA METODOLOGIA DE PURIFICAÇÃO	28
4.3 HIDRÓLISE DOS MATERIAIS	29
4.4 QUANTIFICAÇÃO DE GLICOSE E ART	31
5. CONCLUSÕES	37
6. TRABALHOS FUTUROS	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

INTRODUÇÃO

A procura por alimentos pouco calóricos e a demanda por adoçantes vem aumentando nos dias atuais, devido à preocupação com a saúde, em função dos riscos causados pela alta ingestão de sacarose, tais como: a obesidade, diabetes e problemas ligados a saúde bucal. Os edulcorantes naturais são extratos vegetais modificados quimicamente para obter ou intensificar a doçura e possuem o poder adoçante muitas vezes maior que do açúcar branco convencional e são recomendados para dietas especiais, de emagrecimento ou de restrição (SOUZA, 2013).

O xilitol é um poliálcool cuja fórmula molecular é $C_5H_{12}O_5$ e peso molecular 152,15. Trata-se de um pó cristalino branco e inodoro, cujo dulçor é similar ao da sacarose. É o mais estável dos açúcares e não participa nas reações de Maillard, como todos os polióis. É especialmente empregado em produtos dietéticos, de baixa caloria, como adoçante líquido ou cristais (SOUZA, 2013).

Em escala industrial, o xilitol é obtido por meio de um processo químico de hidrogenação catalítica da D-xilose a altas temperaturas e pressões. Este processo, além de complexo envolve um alto custo, por isso têm sido desenvolvidas algumas técnicas de obtenção do xilitol por vias biotecnológicas. A matéria-prima, D-xilose, é obtida de material lignocelulósico contendo xilana que passa pelo processo de hidrólise (ARRUDA, 2011).

Os materiais lignocelulósicos são os compostos orgânicos mais abundantes na biosfera, participando em aproximadamente 50% da biomassa terrestre, o termo “estrutura lignocelulósica” está relacionado à parte da planta que forma a parede celular (meia lamela, parede primária e parede secundária), composto por estruturas fibrosas, constituído, basicamente de polissacarídeos [celulose (40-60%) e hemicelulose (20-40%)]. Estes componentes estão associados a uma estrutura macromolecular contendo substâncias aromáticas, denominada lignina (15-25%) (SUN&CHENG, 2002).

A hemicelulose está intimamente associada à celulose nos tecidos vegetais e junto com a celulose forma a holocelulose que são os componentes mais abundantes nas plantas. É composta em sua grande maioria de uma mistura de

polissacarídeos: xilanas, arabinanas, arabinoxilanas, mananas e galactomananas. Diferentemente da celulose, a estrutura da hemicelulose não apresenta alta cristalinidade, sendo, portanto, mais suscetível à hidrólise química em condições mais brandas (JACOBSEN, 2000).

A xilose, e as demais pentoses, normalmente são pouco o até mesmo não utilizadas para a conversão em produtos de maior valor agregado. Isto se deve à dificuldade de se determinar um pré-tratamento dimensionado de tal forma que seja possível degradar a lignina e hidrolisar seletivamente a hemicelulose, sem que haja a produção excessiva de subprodutos indesejáveis (eg. Furfural).

Diversos autores demonstram que a quantidade de hemicelulose varia conforme a biomassa de origem. Em estudos anteriores, trabalhou-se com uma biomassa do Cerrado a qual apresentou 39,18% de hemicelulose, uma quantidade significativa quando comparada as biomassas utilizadas para a extração de xilose (BEG *et al.*, 2001). Além disso, essa matéria-prima traz vantagens tais como ser formado majoritariamente por carboidratos, não necessitando de etapas de pré-tratamento muito agressivas, podendo-se assim trabalhar em condições reacionais mais brandas. Como o material é muito hidrofílico, ele apresenta ainda a vantagem de interagir com os reagentes mais facilmente, já que todas as etapas ocorrem preferencialmente em meio aquoso.

Diante todas essas características apresentadas por essa biomassa, seu uso é justificado neste estudo visando a redução das principais dificuldades do processo de obtenção de xilose que, como destacado anteriormente, são as etapas de pré-tratamento e hidrólise. Dessa forma, se torna claro a necessidade de pesquisas que visem tanto a busca por biomassas alternativas, quanto métodos de obtenção de açúcar e conversão ao xilitol com menores custos.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GERAL

Produção de solução rica em açúcares monoméricos obtida a partir de biomassa de *Magonia pubescens*, uma árvore que ocorre no Cerrado. Buscou-se determinar as melhores condições (tempo e concentração) da hidrólise com ácido sulfúrico para conversão das hemicelulose obtidas do gel de tingui após pré-tratamento com agente oxidante.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair o gel sem uso de reagentes químicos;
- Purificação do gel com método oxidativo mais brando e barato;
- Otimizar uma metodologia para a hidrólise do gel purificado objetivando altos rendimentos em açúcares;

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Potencial químico do cerrado

O Cerrado está localizado basicamente no Planalto Central do Brasil e é o segundo maior bioma do país em área, apenas superado pela Floresta Amazônica e ocupa mais de 2.000.000 km², o que representa cerca de 23% do território brasileiro (RIBEIRO & WALTER, 1998).

A acelerada exploração agropecuária desenvolvida no Cerrado, durante as últimas décadas, teve como consequência, além do desenvolvimento socioeconômico da região, a remoção da vegetação nativa através dos desmatamentos realizados, em sua maioria, sem planejamento e fiscalização, prejudicando a biodiversidade, a sustentabilidade e causando desequilíbrios ecológicos neste ecossistema (ALMEIDA et al., 1998).

O Cerrado apresenta uma grande riqueza de espécies que podem ser consideradas “plantas do futuro”, ainda subutilizadas por comunidades locais, quer por desconhecimento científico ou pela falta de incentivos para sua comercialização, a substituição da vegetação natural e o manejo inadequado de muitas culturas tem levado à perda de oportunidades que poderiam beneficiar agricultores e comunidades que habitam a região (VIEIRA, 2006).

As frutas, folhagens e ervas nativas são muito utilizadas para o consumo *in natura* ou para a produção de doces, sucos, chás, geleias pela população local. São também empregadas na medicina popular no tratamento de pessoas e animais. Mas apresentam enorme potencial biológico, com as substâncias fitoquímicas, como em (BESSA, 2013), que caracterizou grupos de metabólitos de 9 espécies de plantas medicinais nativas do cerrado e no melhoramento genético de plantas, como o realizado por (FALEIRO et al., 2011) com o uso de espécies silvestres do cerrado de maracujazeiro (*Passiflora setacea*) para melhoramento do maracujá azedo comercial. E químico na produção tecnológica de cosméticos a partir de óleos de baru, buriti e pequi (SOARES, 2014), condicionadores de solo (VILELA, 2017), biocombustíveis como o biodiesel de óleo de macaúba (CARGNIN, 2008; MOTA, 2011), gás de síntese (VIANA, 2015) e produtos alimentícios (CELESTINO, 2010).

2.2 Tingui e suas características

O Tingui (Figura 1) é uma espécie arbórea com distribuição ampla, ocorre no Cerrado brasileiro e arredores, bem como em outros países sul-americanos e pertencente à família das *sapindaceae*. De nome científico *Magonia pubescens* é ainda conhecido popularmente como cuité, mata-peixe, pau-de-tinguí, timbó, timbó-do-cerrado. É uma árvore de porte médio, geralmente atingindo, entre 5 e 9 metros, floresce nos meses de agosto e setembro e encontra-se distribuído predominantemente na região central do Brasil, nos estados de Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais (ALMEIDA et al., 1998).



Figura 1: Árvore do tingui e fruto maduro. (Fonte: VIEIRA, 2015)

A membrana externa, ou envoltório da semente é capaz de produzir, na presença de água, um gel natural que tem como função hidratar a semente e auxiliar na fixação do solo. Esse gel é composto principalmente de polissacarídeos (celulose e hemicelulose) e carboidratos como glucose, xilose, arabiose, manose e galactose (SALGADO, 1973).

Vieira (2015) realizou a caracterização do envoltório *in natura* e do gel obtido por método oxidativos com solução de agente oxidativo clorado e ácido, o mesmo utilizado neste trabalho, e como resultado obteve um gel transparente (Figura 2) livre de lignina e extrativos, composto apenas de holocelulose com alta capacidade de intumescimento. Os resultados da caracterização do envoltório do tingui e do gel estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização dos componentes: envoltório *in natura* e gel.

PARÂMETRO	Envoltório <i>in natura</i>	Gel
Extrativos (%)	31,17	-
Cinzas (%)	4,82	6,14
Sólidos Totais (%)	89,77	-
Umidade (%)	10,23	-
Holocelulose (%)	50,1	100,0
Hemicelulose (%)	20,16	39,18
Celulose (%)	29,84	60,81
Lignina Solúvel (%)	*	-
Lignina Klason (%)	24,48	-
P (mg/kg)	182,033	18,65
B (mg/kg)	10,45	<0,0002
Cu (mg/kg)	3,15	2,65
Mn (mg/kg)	114,366	1,1
Zn (mg/kg)	1,708	4,475
Fe (mg/kg)	24,891	38,675
Al (mg/kg)	15,691	<0,0002
Cr (mg/kg)	12,425	9,625
Pb (mg/kg)	6,125	12,075
Ni (mg/kg)	7,65	11,25
Co (mg/kg)	0,3	2,5
Ba (mg/kg)	1,075	1,375

*valores abaixo do limite de detecção do método utilizado



Figura 2: Gel Purificado com agente oxidativo clorado. (Fonte: VIEIRA, 2015)

Avaliando os resultados das pesquisas já realizadas com o tingui e a composição do gel, reconheceu-se a possibilidade do isolamento de carboidratos e consecutivamente a obtenção de açúcares monoméricos (pentoses e hexoses).

2.3 Xilanas

A xilana (Figura 3) é a principal hemicelulose, correspondente a um grupo de polissacarídeos que apresentam cadeia principal composta por unidades de β -D-xilose conectadas por ligações β -1,4. Normalmente apresenta ramificações laterais que podem consistir de resíduos de ácido glicurônico, ácido 4-O-metil-glicurônico, L-arabinose, ácido acético, ácido ferúlico, ácido p-cumárico e D-galactose. Xilanas sem ramificações (homoxilana linear) são raras na natureza. A xilana, por ter composição mais heterogênea que a celulose, requer uma diversidade maior de enzimas para sua completa hidrólise (BEG et al., 2011; COLLINS et al., 2005; SCHELLER e ULVSKOV, 2010; SILVA, 2014).

Na parede celular vegetal, a xilana está em íntima associação com a celulose, revestindo as microfibrilas, atuando na manutenção de sua integridade e dificultando sua degradação, além de ser ligada covalentemente à matriz de lignina. A xilana, portanto, é importante na coesão entre a celulose e a lignina (COLLINS et al., 2005; BEG et al., 2001; SILVA, 2014).

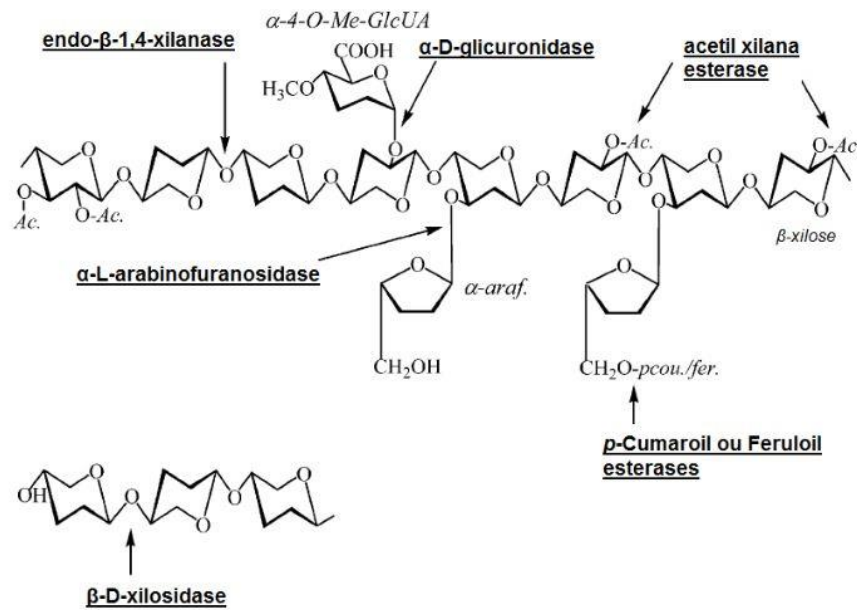


Figura 3: Esquema da estrutura da xilana (Fonte: COLLINS et al., 2005).

No contexto tecnológico, a xilana é empregada na produção de biofilmes e embalagens biodegradáveis (LUCENA et al., 2017), no estudo da hornificação (conjunto de fenômenos físico-químicos que ocorre durante a remoção de água) de pastas e polpas celulósicas, onde polpas com menor teor de hemiceluloses sofrem maior fenômeno de hornificação, conseqüentemente, tornam as fibras mais rígidas, colapsadas e com menor capacidade de intumescimento em água (SANTOS, 2005). Apresenta potencial atividade biológica como antioxidante, antiproliferativo e anticoagulante (SILVEIRA, 2010), mas é principalmente utilizado como matéria-prima para a hidrólise com conversão em xilose e posteriormente para xilitol.

2.4 Xilitol

O xilitol é um açúcar-álcool de cinco carbonos (álcool pentahidroxilado) encontrado nas fibras de muitos vegetais e alguns tipos de cogumelos, entretanto a extração a partir destas fontes é economicamente inviável devido às pequenas concentrações (HYVONEN et al., 1982).

Pode-se destacar entre suas propriedades, a atividade anti e não cariogênico (AUTIO, 2002). É não cariogênico, uma vez que os microrganismos normalmente encontrados na cavidade oral não são capazes de metabolizá-lo, o que impede que

produzam ácidos que ataquem o esmalte dos dentes. Há também a redução da quantidade de *Streptococcus mutans* (principal agente responsável pela cárie) através do uso regular de gomas de mascar contendo o xilitol. (AUTIO, 2002).

Comercialmente já existem produtos que contêm xilitol. No Brasil, observa-se um crescente interesse no uso do xilitol em diversos produtos, como enxaguantes bucais, cremes dentais, gomas de mascar, balas, adoçantes líquidos ou em sua forma granular. A Figura 4 mostra alguns produtos brasileiros que utilizam o xilitol.



Figura 4: Produtos brasileiros que contêm xilitol (Fonte: o autor).

Na produção de xilitol, duas tecnologias se destacam, a primeira e convencional é a produção por processo químico, através da hidrogenação catalítica da xilose e o segundo por processo bioquímico pela fermentação da xilose utilizando leveduras do gênero *Candida*. Ambas tecnologias exigem que a matéria lignocelulósica passe pela etapa de hidrólise ácida para conversão da xilana em xilose e etapa de remoção de resíduos e concentração da xilose (SARROUH, 2009; ARRUDA, 2011).

Na Figura 5, apresenta-se o fluxograma com as possibilidades e processos pelo qual a matéria-prima passa para produção de xilitol.

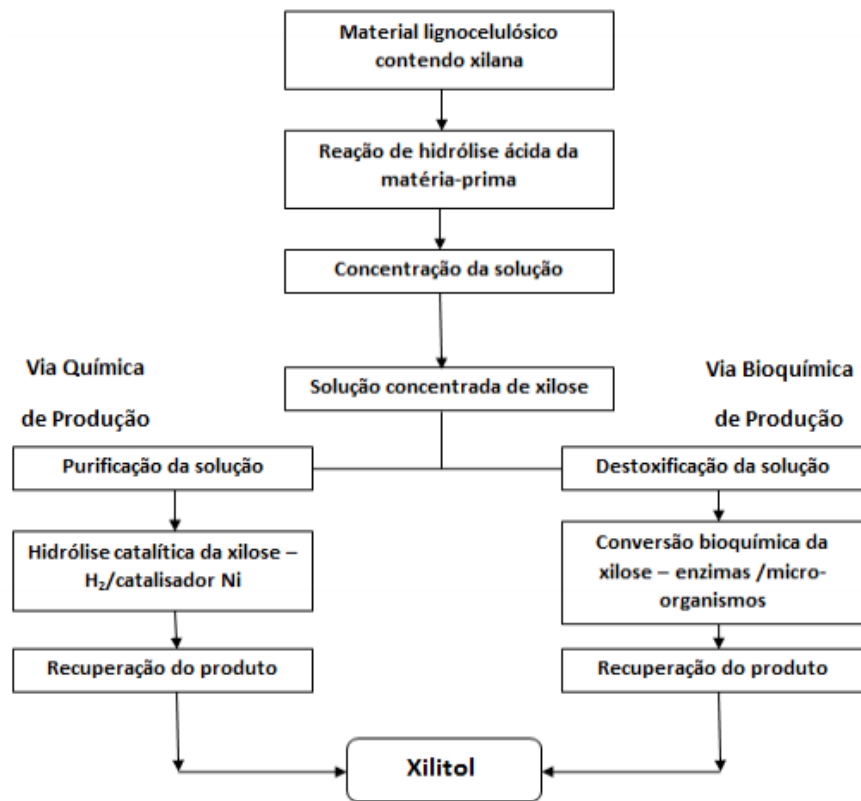


Figura 5: Fluxograma das tecnologias para produção de xilitol a partir da matéria-prima lignocelulósica demonstrando as rotas química e biotecnológica. (Fonte: ARRUDA, 2011)

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coleta da matéria prima

A coleta do fruto do tingui foi realizada na região do cerrado, na cidade de Formosa no estado de Goiás. Foram coletados aproximadamente 10 kg de frutos secos, enquanto estes ainda estavam presos à árvore. Os frutos foram coletados e acondicionados em caixa de papelão até a chegada no laboratório. As amostras coletas foram descascadas separando o envoltório da semente. A Figura 6 mostra o envoltório *in natura* após a extração da semente.

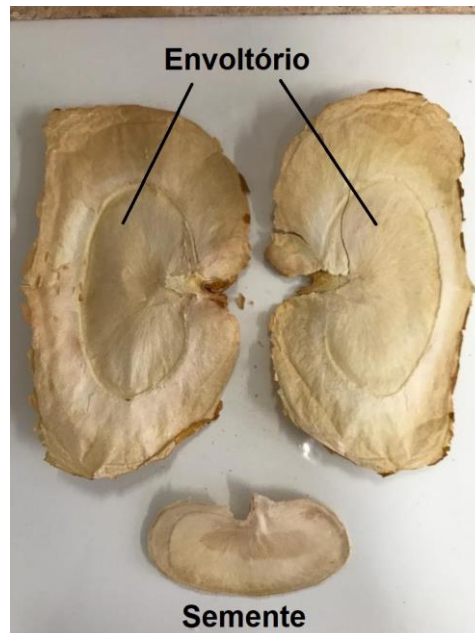


Figura 6: Envoltório *in natura* do tingui após separação da semente (Fonte: o autor).

3.2 Extração úmida

O envoltório *in natura* do tingui foi imerso em um recipiente contendo água destilada o suficiente para cobrir toda a biomassa, foi coberto com filme PVC e deixado em repouso por 12 horas. Após o período, o gel foi raspado manualmente e separado das cascas do envoltório. Por último, foi seco em estufa à 60°C até peso constante. A Figura 7 mostra o gel formado após intumescimento do envoltório, o gel raspado úmido e seco.

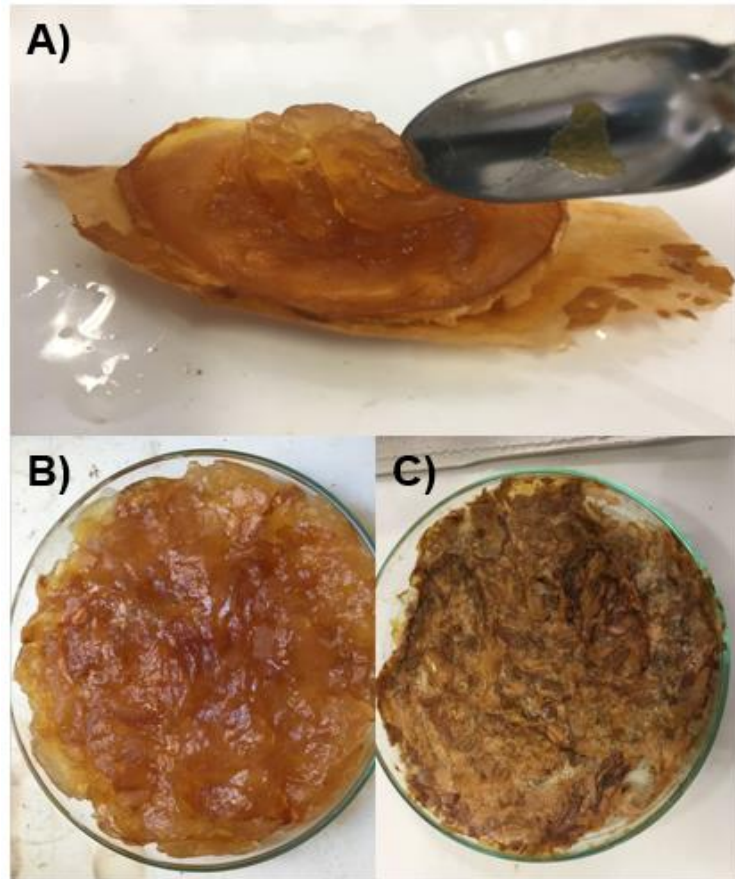


Figura 7: A) Gel formado no envoltório da semente após intumescimento, B) Gel úmido, C) Gel após secagem. (Fonte: o autor).

3.3 Moagem

O gel seco foi moído em moinho de facas tipo Willye Super da marca Fortinox, modelo STAR FT-82/2. A Figura 8 mostra o gel após moagem.



Figura 8: Gel seco e moído (Fonte: o autor).

3.4 Purificação do gel

O tratamento foi realizado com 5 g do gel *in natura*, os quais foram devidamente pesados em balança analítica e posteriormente adicionados em um béquer de 500 mL. Ao béquer foram adicionados 135 mL de solução do agente oxidante (este agente não pode ser citado neste trabalho, devido ao registro de patente). O béquer contendo a matéria prima e os reagentes foram mantidos em chapa termostatizada ajustada em 70 °C por uma hora. Após esta etapa o material foi filtrado em funil de porcelana com papel de filtro e lavado com água levemente acidificada (pH 6) até a neutralidade e em seguida água destilada até neutralidade do filtrado. Por fim, foi seco em estufa a 60 °C até peso constante e novamente triturado para posterior teste de hidrólise.

Para o cálculo do rendimento do gel *in natura*, o material extraído de 1 g de envoltório foi seco em estufa a 60 °C até peso constante. O experimento foi realizado em triplicata e o rendimento em gel obtido pela equação 1.

$$\text{Rend. Gel} = \frac{\text{Massa gel seco (g)}}{\text{Massa de envoltório seco (g)}} \times 100$$

3.5 Hidrólise ácida

Os testes reacionais de hidrólise foram conduzidos em sistema fechado. Foram utilizados frascos de vidro de 100 mL com tampa, devidamente lacrados e colocados numa autoclave à pressão de vapor do sistema. As reações foram conduzidas a 120 °C variando-se a concentração de ácido sulfúrico e o tempo de reação. Todas as condições reacionais estão descritas na Tabela 2, ao termino da reação, os frascos foram retirados da autoclave, resfriados em banho de gelo e os resíduos sólidos foram separados da fração líquida por centrifugação. As frações líquidas contendo o material hidrolisado foram armazenadas para posterior quantificação de glicose e ART. Todas as reações foram feitas em triplicatas.

Tabela 2 – Condições utilizadas nas reações de hidrólise.

Exp.	Biomassa	Massa (g)	Volume de solução (mL)	Conc. Sol. H ₂ SO ₄ (% v/v)	Tempo (min)
1	Gel purificado	0,5	40	0,5	60
2	Gel purificado	0,5	40	0,5	120
3	Gel purificado	0,5	40	0,5	180
4	Gel purificado	0,5	40	1	60
5	Gel purificado	0,5	40	1	120
6	Gel purificado	0,5	40	1	180
7	Gel purificado	0,5	40	2	60
8	Gel purificado	0,5	40	2	120
9	Gel purificado	0,5	40	2	180

3.6 Quantificação do teor de glicose

Para determinar o teor de glicose após hidrólise foi feito um teste enzimático colorimétrico utilizando um kit de reagentes específico, denominado glicose monoreagente. São dois reagentes: reagente enzimático, nº 1, e reagente padrão nº 2 contendo glicose na concentração de 100,0 mg.dL⁻¹. Realizou-se a leitura das absorbâncias das amostras e do padrão no espectrofotômetro UV-VIS marca Shimadzu, em comprimento de onda 505 nm. A concentração de glicose foi determinada a partir da equação 2:

$$\text{Glicose} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right) = \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 100$$

3.7 Açúcares Redutores Totais

Os açúcares redutores totais foram determinados utilizando o método de Lane & Eynon segundo o Manual for Australian Sugar Mills, 2001. Um volume de 10 mL da solução de Fehling é titulada com a solução açucarada até reduzir todo o cobre, tendo como indicador do ponto final o azul de metileno. Os açúcares redutores totais (ART) foram calculados segundo a equação 3:

$$\text{ART}(\text{g}/100 \text{ mL}) = \frac{(b - a) \times 5 \times f}{10 \times v}$$

Onde:

ART = açúcares redutores totais;

b = Volume da solução de glicose gasto na titulação do branco (mL);

a = Volume gasto na titulação da amostra (mL);

f = fator de diluição;

v = volume da amostra preparada usado na titulação (mL);

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Estudo da extração úmida

Em trabalhos anteriores (VIEIRA, 2015; VILELA, 2017) nosso grupo de pesquisa desenvolveu um método de purificação e modificação química do gel do tingui, a fim de gerar produtos para dispositivos de liberação controlada de fármacos, absorventes e condicionadores de solo. Nesses trabalhos foram observados que o gel formado continha altos teores de holocelulose.

Nos trabalhos anteriores todo o envoltório era moído para obtenção do gel, nesse trabalho, com o objetivo de diminuir a quantidade de matéria não formadora de gel e obter maior conteúdo de hemicelulose, já que está contida majoritariamente no gel formado, ele foi extraído por via úmida como descrito no item 3.2 e mostrado na Figura 9.

Em VIEIRA, 2015 os géis foram preparados a partir da moagem de todo o envoltório com posterior etapa de purificação, para redução de uso excessivo de reagentes oxidantes gastos na purificação optou-se por realizar uma extração úmida, imergindo o material em água e raspando o gel formado. Com a separação da casca do gel (Figura 9) já há uma redução considerável de material não formador de gel, exigindo menos da reação de purificação.

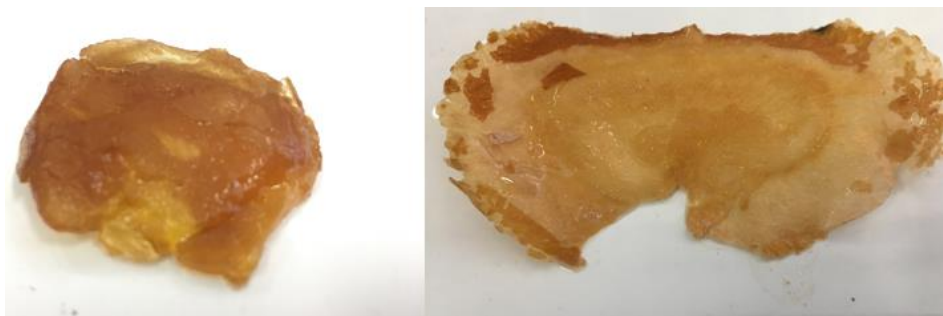


Figura 9: Gel (esquerda) separado do envoltório (direita) (Fonte: o autor).

Foi feito o rendimento em gramas de gel por gramas de envoltório seco, para isso, pesou-se 1,0 g de amostra (com precisão de 100 mg) seca em placa de petri e realizou-se a extração úmida com posterior secagem a 60 °C em estufa até peso constante. O experimento foi realizado em triplicata, e o rendimento de gel médio foi de 42,36% de gel em relação ao envoltório seco.

4.2 Análise da metodologia de purificação

A purificação do gel em trabalho anterior (VIEIRA, 2015) foi realizada com solução de agente oxidante clorado em meio ácido, porém por ser um reagente caro, deixar um residual de cloro no gel purificado, formar clorolignina que é um composto tóxico, aumentar o tempo de lavagem e por haver a necessidade de uma reação mais branda, optou-se pela utilização de outro agente oxidante em meio alcalino.

Na Figura 10 é possível observar os estágios do clareamento do gel *in natura*. Ao final da reação, foi possível obter, um gel (Figura 11) homogêneo, inodoro e transparente (após intumescimento), assim como o obtido com agente oxidante clorado, porém sem residual de cloro e clorolignina e com menor tempo de lavagem.

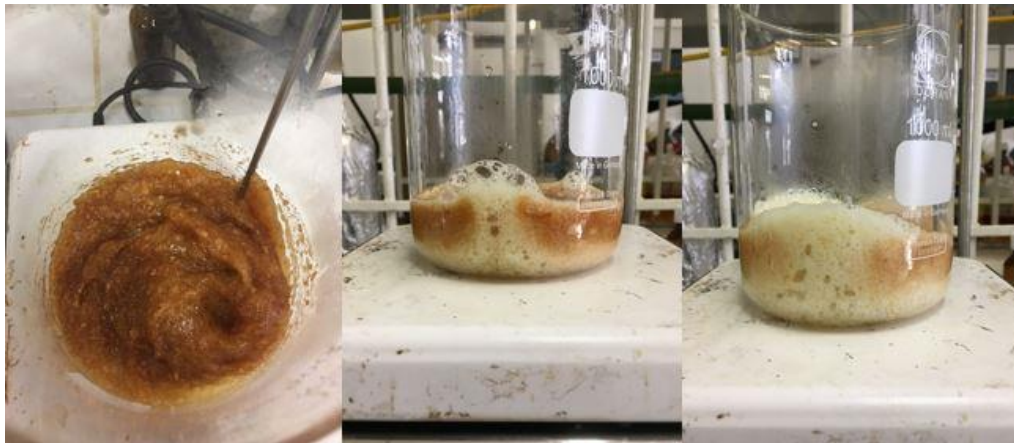


Figura 10: Estágios da purificação do gel (Fonte: o autor).



Figura 11: Gel Purificado e lavado (Fonte: o autor).

4.3 Hidrólise dos materiais

A Figura 12 apresenta um esquema das reações que acontecem durante a hidrólise ácida de materiais lignocelulósicos, na qual ocorre a liberação de açúcares e formação de compostos fenólicos.

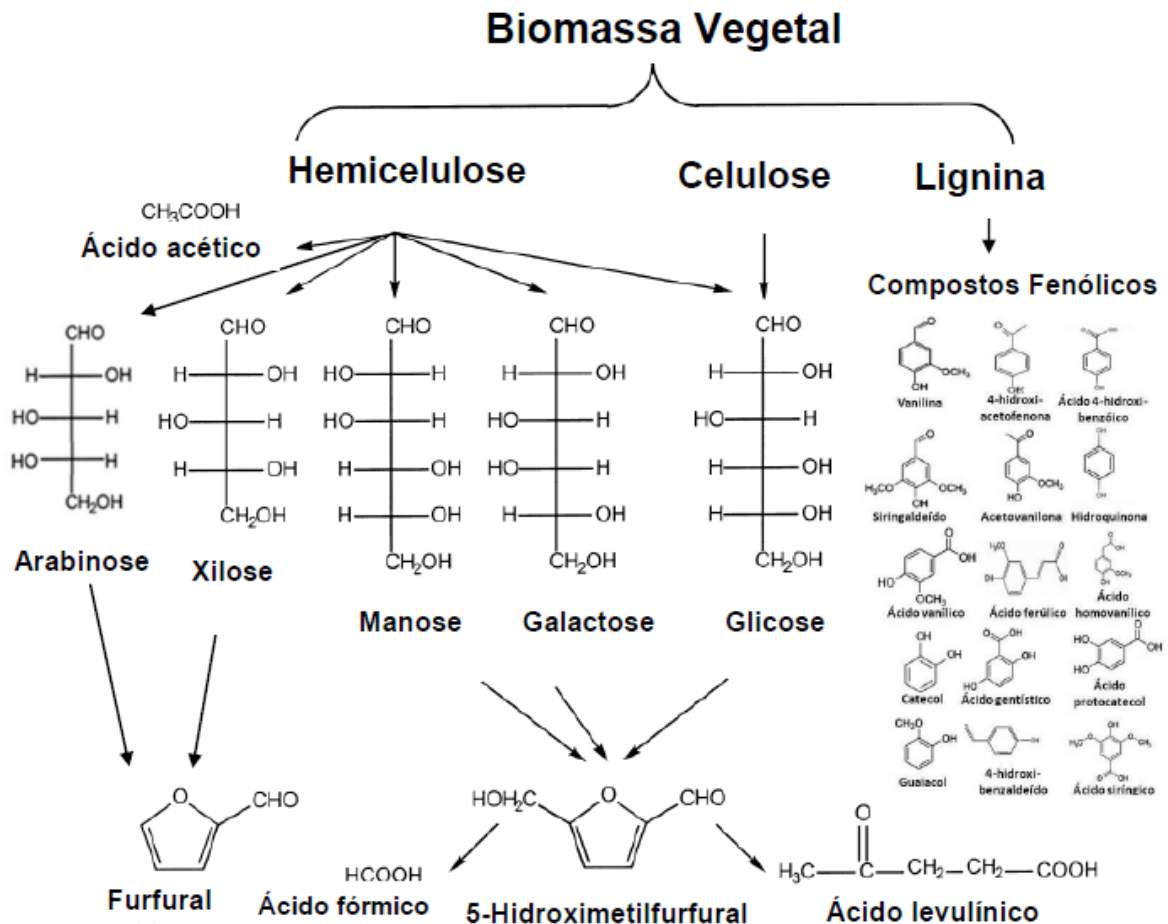


Figura 12: Esquema das reações que ocorrem durante a hidrólise ácida de materiais lignocelulósicos. (Fonte: ARRUDA, 2011)

A partir de observações visuais dos frascos contendo o material hidrolisado foi possível evidenciar que não houve solubilização completa da amostra, uma vez que havia quantidade de resíduos sólidos na parte inferior dos frascos demonstrando que não houve hidrólise completa da amostra.

Foi possível observar também, que quanto maior o tempo de reação, mais amarelada se tornava a solução e menor a quantidade de resíduo sólido resultante após hidrólise, indicando uma maior solubilidade e, possivelmente, uma maior conversão em açúcares. Por outro lado, quanto maior a concentração de H_2SO_4 , à

medida que o tempo de reação aumentava, a coloração do hidrolisado escurecia indicando uma provável degradação dos produtos.

Na Figura 13 estão presentes as fotos dos materiais hidrolisados nas diferentes condições de tempo e concentração de ácido sulfúrico.

Nos frascos A, B, D e H houve pouca alteração de cor e a quantidade de resíduo sólido restante indicou que praticamente não houve hidrólise efetiva do gel purificado. Nos frascos C, E, G e I houve uma alteração de cor mais expressiva que o comentado anteriormente, porém a quantidade de sólidos ainda indicou baixa taxa de hidrólise, diferente dos frascos F e J que apresentaram pouco resíduo sólido indicando maior taxa de hidrólise do material.

Essa análise qualitativa pode ser comprovada posteriormente com a quantificação da glicose e ART nos hidrolisados.

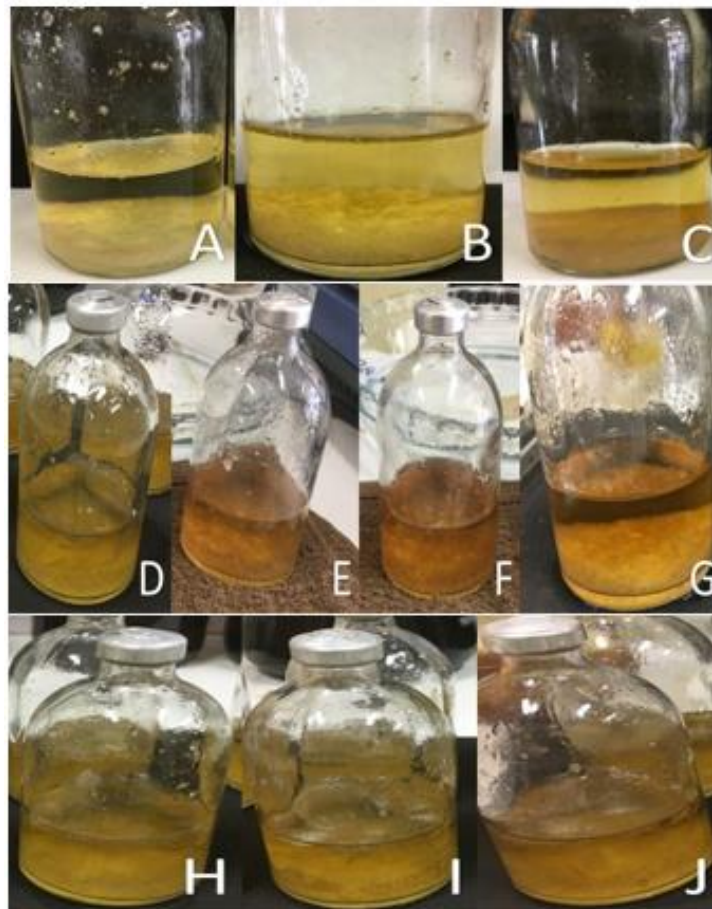


Figura 13: Materiais hidrolisados com 0,5% H_2SO_4 a 120 °C: (A) 60min, (B) 120 min, (C) 180 min; 1,0% H_2SO_4 a 120 °C: (D) 60 min, (E) 120 min, (F) 180 min; 1,0% HCl a 120°C: (G) 180 min; 2,0% H_2SO_4 a 120 °C: (H) 60 min, (I) 120 min, (J) 180 min (Fonte: o autor).

4.4 Quantificação de glicose e ART

Por se tratar de técnicas rápidas e simples, esses testes foram utilizados para se obter a quantidade de açúcares produzidos nas reações de hidrólise, e assim auxiliar na escolha da melhor condição de reação para produção de açúcares.

Na Figura 14, observa-se a quantidade de glicose média obtida na reação de hidrólise variando-se o tempo de reação. O maior resultado se apresentou na reação com 1,0% de H_2SO_4 por 180 minutos, na reação com HCl sob mesmas condições de concentração e tempo que a anterior o resultado foi muito similar as reações com 0,5% de H_2SO_4 e 1,0% H_2SO_4 por 60 e 120 min, nestas condições não houve a completa hidrólise do gel purificado levando a menores concentrações de glicose. A hidrólise com 2,0% de H_2SO_4 se mostrou similar a 1,0%, porém nota-se que houve um consumo de glicose pelo ácido, levando a outros produtos, como o hidroximetilfurfural.

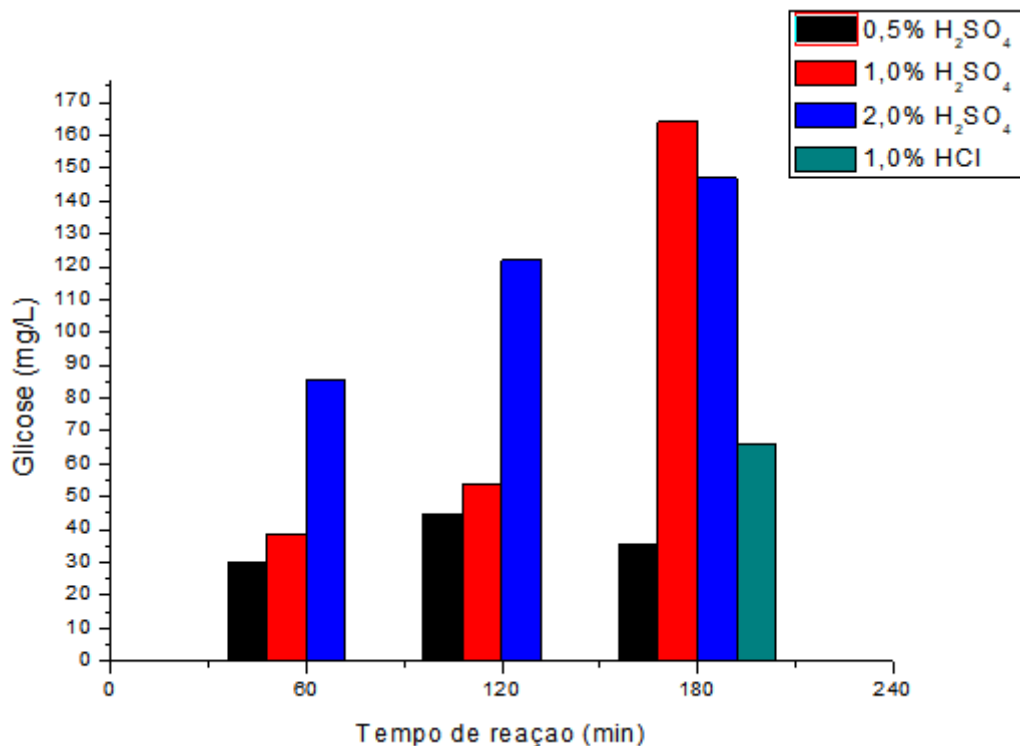


Figura 14: Teor de glicose x tempo de reação das hidrólises do gel purificado (Fonte: o autor).

Analisando a Figura 15, baixos rendimentos em glicose foram encontrados, resultando em quase todos os valores inferiores a 1%. O melhor rendimento alcançado, 1,31% aproximadamente, foi para a hidrólise da amostra em solução

ácido sulfúrico, a 1%, por 180 minutos. Observa-se ainda que quando a reação foi realizada com maior concentração de H_2SO_4 (2%) por 180 minutos, o rendimento diminuiu para 1,17%, indicando que parte da glicose foi degradada pelo ácido. Na reação com ácido clorídrico, o rendimento foi menor ainda, 0,53%, indicando que a quantidade de ácido não foi suficiente para que a hidrólise ocorresse de maneira efetiva.

Uma explicação para o baixo rendimento em glicose é o alto grau de cristalinidade da celulose. As regiões cristalinas apresentam resistência à solvatação e ao ataque químico devido à forte coesão existente entre as moléculas gerada pelas ligações hidrogênio inter e intramoleculares (GROSSI, 2015).

Para este trabalho, o baixo rendimento em glicose é uma vantagem, pois demonstra que a reação foi seletiva para quebra da hemicelulose do gel purificado gerando uma solução rica em açúcares da hemicelulose (principalmente xilose) e permanecendo a celulose sem considerável degradação. Uma baixa concentração de glicose em relação a xilose é desejada para a bioconversão de xilose em xilitol, uma vez que a glicose é metabolizada preferencialmente pelo microrganismo e também para conversão química, já que a glicose é considerada um contaminante. (SARROUH, 2009).

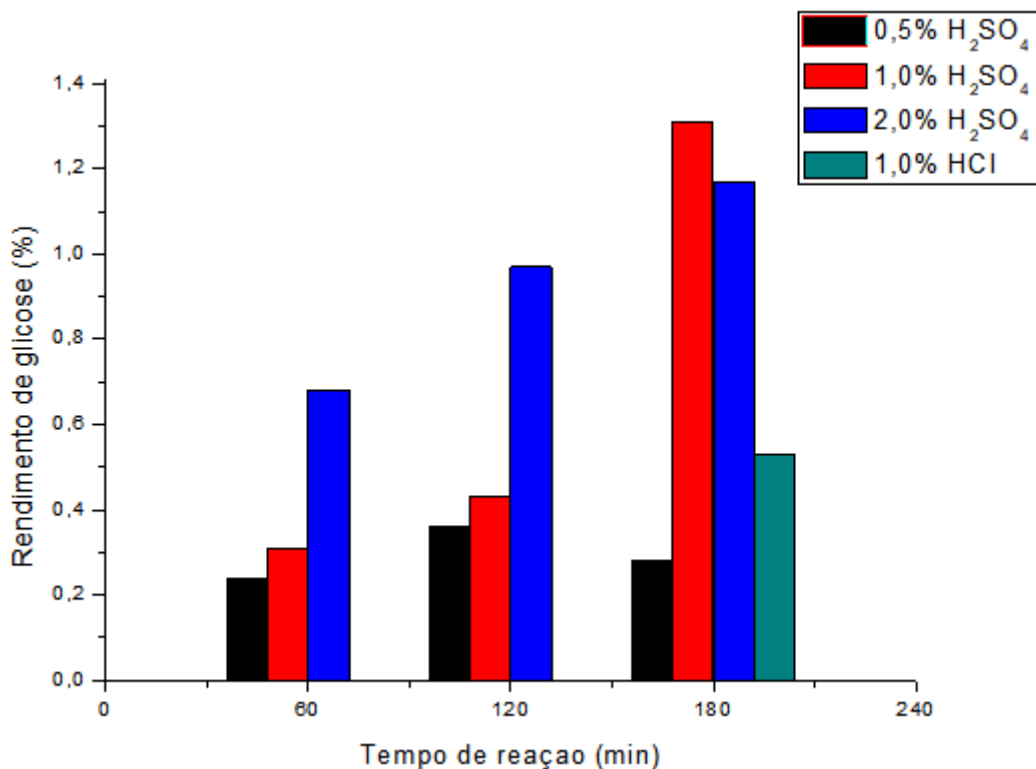


Figura 15: Rendimento de glicose (%) x reação das hidrólises do gel purificado (Fonte: o autor).

Na Figura 17, observa-se a quantidade de açúcares redutores obtidos na reação de hidrólise pelo tempo de reação. Os açúcares redutores são aqueles capazes de reduzir íons metálicos, como a prata e o cobre, em reações nas quais o açúcar se oxida formando ácidos carboxílicos. Esses açúcares na forma linear (cadeia aberta) apresentam um grupo carbonila ou em forma cíclica um grupo hidroxila no carbono anomérico (Figura 16). Todos os monossacarídeos, como xilose, arabinose, glicose, galactose e manose são açúcares redutores (SUN, 2002; JACOBSEN, 2000).

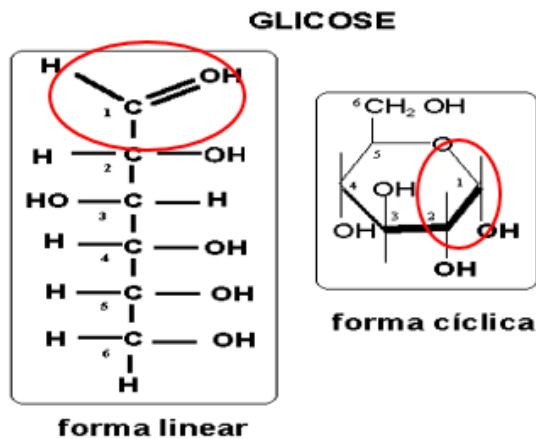


Figura 16: Glicose na forma linear e cíclica com destaque ao carbono anomérico (Fonte: o autor).

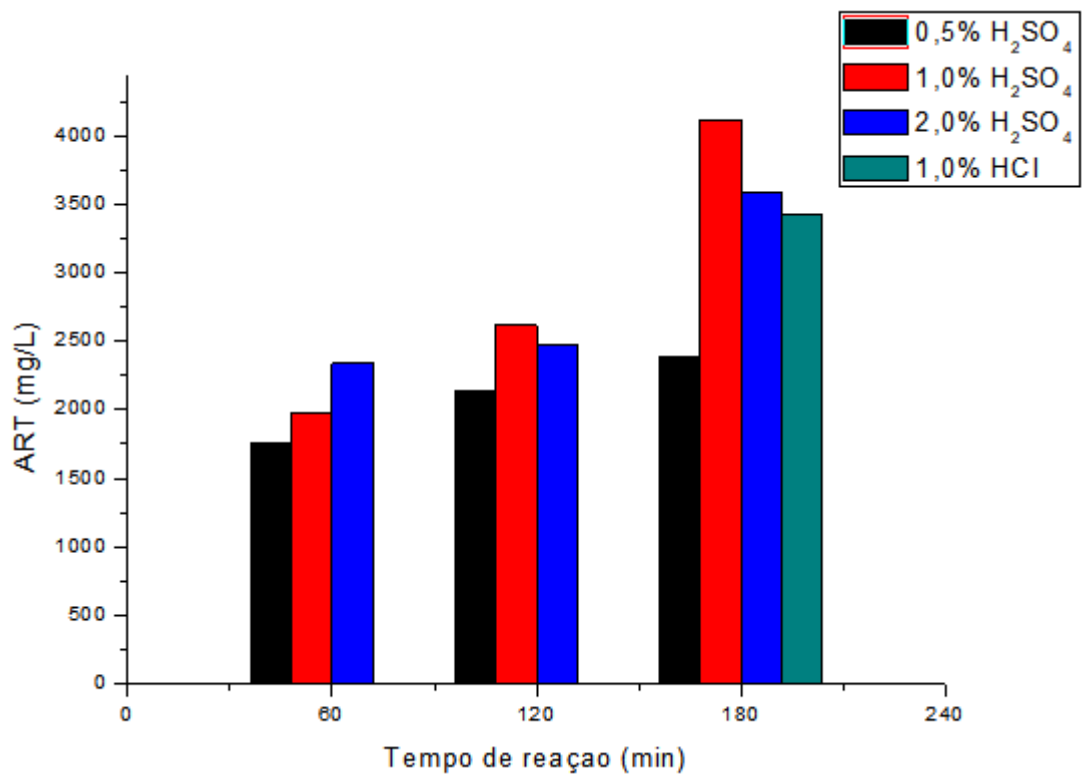


Figura 17: Açúcares Redutores Totais - ART x tempo de reação das hidrólises do gel purificado (Fonte: o autor).

Nos resultados obtidos de rendimento de açúcares redutores (Figura 18), verifica-se maiores rendimentos do que comparado ao obtido em glicose, indicando que houve hidrólise das hemiceluloses contidas no gel purificado. Quando se compara a eficiência da hidrólise para a celulose e hemicelulose, fica evidente que os teores de açúcares provenientes da celulose são muito inferiores que os provenientes das hemiceluloses. Diferente da celulose, as hemiceluloses não formam regiões cristalinas, portanto são mais suscetíveis ao ataque químico.

Novamente o maior rendimento alcançado, aproximadamente 33%, foi para a hidrólise da amostra em solução ácido sulfúrico, a 1%, por 180 minutos. Analisando a literatura, SILVEIRA, 2010 na hidrólise com HCl (2 mol/L) a 100 °C por 120 minutos da farinha do sabugo de milho obteve-se 25,8% de rendimento de açúcares redutores, DELGADO, 2015 na hidrólise com H₂SO₄ (5,0% v/v) a 100 °C por 90 minutos do sabugo de milho obteve-se 16,50% de rendimento de açúcares e na folha do milho sob mesmas condições, 14,42%. Por último, ARRUDA, 2011 na hidrólise com 100 mg de H₂SO₄ (98%) para 1 g de amostra, a 150 °C por 30 minutos do bagaço de cana-de-açúcar obteve-se 38% de rendimento.

Portanto os resultados para a hidrólise do gel purificado se mostraram satisfatórios em relação ao rendimento de açúcares de outros trabalhos, visto que, neste trabalho usou-se uma concentração menor de ácido. Comparado ao trabalho desenvolvido com bagaço de cana-de-açúcar que é um resíduo lignocelulósico bastante estudado no Brasil quanto ao reaproveitamento para produção de novos materiais percebeu-se que mesmo utilizando maiores concentrações de ácido (H_2SO_4 98%) na reação de hidrólise, não se atingiu grandes rendimentos, sendo este apenas 6% maior que o adquirido neste trabalho.

Quando se compara aos resultados de trabalhos com resíduos do milho, que atualmente é a principal biomassa utilizada para produção de xilitol, percebeu-se uma vantagem no rendimento de açúcares. Isto ocorreu devido a etapa de purificação que concentrou o gel, ou seja, maior teor de hemicelulose e a matéria prima ser bastante hidrofílica interagindo mais facilmente com as soluções empregadas, outro fator foram as condições de temperatura e tempo que foram superiores neste trabalho.

Após a análise desses resultados, ficou definido que a condição ideal de hidrólise do gel purificado, a 120 °C, ocorre em solução de ácido sulfúrico, de concentração 1,0 % (v/v), por 180 minutos.

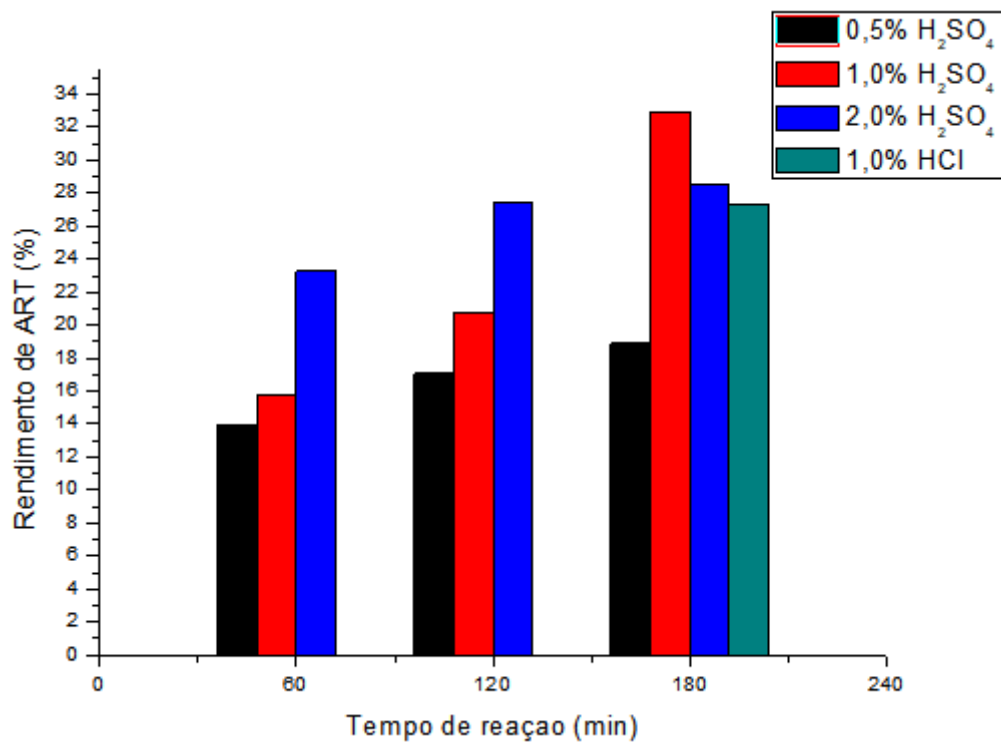


Figura 18: Rendimento de ART (%) x reação das hidrólises do gel purificado (Fonte: o autor).

5. CONCLUSÕES

A extração úmida se mostrou vantajosa, pois separou o gel da casca do envoltório antes da etapa de purificação, o que tornou possível a utilização de reagentes oxidativos mais brandos, menores concentrações, baratos e com geração de menos resíduos. O método de purificação com agente oxidante em meio alcalino se mostrou eficiente, pois transformou o gel em um gel homogêneo, inodoro e translúcido após intumescido.

A melhor condição de hidrólise do gel purificado, ocorreu em solução de ácido sulfúrico, 1,0% v/v, por 180 minutos. Nessas condições, além de um rendimento satisfatório em teor de açúcares redutores (33%) em comparação com outros trabalhos, a quantidade de material solubilizado foi maior e a reação se mostrou seletiva à hemicelulose, tendo a fração de celulose não reagido com o ácido.

O gel obtido do tingui apresentou potencial para produção de uma solução rica em monômeros de açúcar partindo da hemicelulose, que pode ser utilizada na fabricação de xilitol, um produto de maior valor agregado, confirmando o potencial de plantas do cerrado e aumentando seu valor junto à comunidade científica e indústria extrativista.

Portanto, a utilização do gel natural de *Magonia pubescens* pode representar uma grande vantagem, pois representa uma inovação tecnológica e pode impulsionar a economia local pela extração dos frutos, configurando, portanto, o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis.

6. TRABALHOS FUTUROS

Em trabalhos futuros a amostra da hidrólise de melhor resultado em teor de açúcares será levada para análise em Cromatográfica Líquida (HPLC) para quantificação dos açúcares monoméricos (xilose, manose, arabinose, galactose e glicose) e subprodutos (hidroximetilfurfural e furfural). Com a quantificação de xilose é possível prever um rendimento da produção de xilitol via reação química ou biotecnológica. E também um estudo e avaliação de condições de hidrólise com HCl. Esse estudo possibilitará o uso da biomassa para produzir um produto de maior valor agregado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: Embrapa-CPAC, p. 14-19, 1998.
- ARRUDA, P. V. Avaliação do processo biotecnológico de obtenção de xilitol em diferentes escalas a partir do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. Dissertação de doutorado, Lorena, USP, 2011.
- AUTIO, J. T. Effect of xylitol chewing gum on salivary *Streptococcus mutans* in preschool children. *ASDC Journal of Dentistry for Children*, v.69, n.1, p. 81-86, 2002.
- BEG, Q. K.; KAPOOR, M.; MAHAJAN, L.; HOODAL, G. S. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 56, p. 326-338, 2001.
- BESSA, N. G. F.; BORGES, J. C. M.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M. A. B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S. L.; RIBEIRO, L. U.; QUIRINO, M. S.; CHAGAS, A. F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins, *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.15, n.4, supl.I, p.692-707, 2013.
- CARGNIN, A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FOGAÇA, C. M.; Potencial da Macaubeira como Fonte de Matéria-prima para Produção de Biodiesel. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2008.
- CELESTINO, S. M. C.; Produção de Refrigerantes de Frutas. Embrapa Cerrados, Planaltina, Documento 279, 2010.
- COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. *FEMS Microbiology Reviews*, v.29, p. 3-23, 2005.
- DELGADO, S. I. L. Obtenção de melaço rico em Xilitol a partir da biomassa de milho. 2015. Dissertação de mestrado.
- FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; OLIVEIRA, E. J.; PEIXOTO, J. R.; COSTA, A. M. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro: histórico e perspectivas. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011. 36 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 307).

GROSSI, E. C.; Produção de etanol de segunda geração a partir de um derivado de celulose. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

HENRIKSSON, G.; LENNHOLM, H. Cellulose and Carbohydrate Chemistry. In: EK, M.; GELLERSTEDT, G.; HENRIKSSON, G. Wood chemistry and Biotechnology. Berlin: de Gruyter, 2009.

HYVONEN, L. et al. Food technological evaluation of xylitol. Adv. Food Res., v. 28, p. 373-402, 1982.

JACOBSEN, S. E. A. C. E. W. Cellulose and hemicellulose hydrolysis models for application to current and novel pretreatment processes. Appl Biochem Biotechnol n. 84, p. 81-96, 2000.

LUCENA, C. A. A.; COSTA, S. C.; ELEMEN, G. R. A.; MENDONÇA, E. A. M.; OLIVEIRA, E. E. Desenvolvimento de biofilmes à base de xilana e xilana/gelatina para produção de embalagens biodegradáveis. Polímeros, 27(número especial), p. 35-41, 2017.

MOTA, C. S.; CORREA, T. R. GROSSI, J. A. S.; CASTRICINI, A.; RIBEIRO, A. S. Exploração sustentável da macaúba para produção de biodiesel: colheita, pós-colheita e qualidade dos frutos. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 32, n. 26, p. 41 – 51, 2011.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T.; Fitofisionomias do bioma Cerrado, c.3, p.89-166, 1998.

SANTOS, F. R. Efeito do teor e estrutura de xilana de pastas brancas de *E. globulus* na sua tendência para a hornificação. Dissertação de Mestrado, Universidade de Aveiro, 2005.

SARROUH, B. F. Estudo da produção biotecnológica de xilitol em reator de leito fluidizado utilizando bagaço de Cana-de-açúcar e células imobilizadas: Avaliação de parâmetros operacionais e viabilidade econômica. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2009.

SHELLER, H. V.; ULVSKOV, P. Hemicelluloses. Annual Reviews in Plant Biology, v. 61, p. 263-289, 2010.

- SILVA, C. O. G. *Emericella nidulans* e Bagaço de Cana-de-Açúcar: Ferramentas para produção de Endo- β -1,4-Xilanase. Dissertação de Mestrado, UnB, Brasília, 2014.
- SILVEIRA, R. F. M. Atividades Biológicas de Xilana de Sabugo de Milho. Dissertação de Mestrado, UFRN, Natal, 2010.
- SOARES, N. R.; DAMIANI, C.; SOUZA, A. R. M.; Avaliação da atividade antimicrobiana e caracterização físico-química de sabonete líquido à base de óleo de baru, buriti e pequi. UFG, Goiânia, 2014.
- SOUZA, V. R.; SOUZA, A. B.; ALMEIRA, D. F.; STEPHANI, R. Dossiê Edulcorantes. Food Ingredientes Brasil, nº 24, p. 29-52, 2013.
- SUN, Y. e J. CHENG. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. Bioresource Technology, v. 83 n. 1 p. 1-11, 2002.
- TAMANINI, C.; HAULY, M. C. O. Agro-Industrial residues in biotechnological production of xylitol. Semina: Ciências Agrárias, v. 25, n. 4, p. 315-330, 2004.
- The Laboratory Manual for Australian Sugar Mills – Volume 2 – Analytical Methods and Tables – Method 32 – Reducing Sugars – Determination in Raw Sugar by the Lane and Eynon Method – Abril, 2001.
- VIEIRA, A. C. M.; Géis Superabsorventes de Biomassa do Cerrado: Síntese e Caracterização. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.
- VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M.; Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 2006.
- VILELA, F. J. Desenvolvimento de um Condicionador de Solos com valor agregado a partir da biomassa de *Magonia pubescens*. Dissertação de Doutorado, UnB, Brasília, 2017.
- VIANA, N. A. Aproveitamento Energético de Biomassas Residuais Florestais do Cerrado para Produção de Gás de Síntese por Meio do Processo de Gaseificação. Dissertação de Mestrado, UnB, Brasília, 2015.