UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA – EEL

BRUNO CHABOLI GAMBARATO

**Isolamento e caracterização de ligninas de palha de
cana-de-açúcar**

Lorena

2014

BRUNO CHABOLI GAMBARATO

**Isolamento e caracterização de ligninas de palha de
cana-de-açúcar**

**Tese apresentada à Escola de Engenharia de Lorena
da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências do Programa de Pós-
graduação em Biotecnologia Industrial na Área de
Concentração: Conversão de Biomassa.**

Orientador: Prof. Dr. Adilson Roberto Gonçalves

Versão Original

Lorena

2014

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na Publicação
Biblioteca “Cel. Luiz Sylvio Teixeira Leite”
Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo

Gambarato, Bruno Chaboli

Isolamento e caracterização de ligninas de palha de cana-de-açúcar / Bruno Chaboli Gambarato. – Versão original. - 2014.

106 p.: il.

Tese (Doutor em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2014.

Orientador: Adilson Roberto Gonçalves

1. Lignina 2. Palha de cana-de-açúcar 3. Análise espectroscópica 4. Pré-tratamento ácido 5. Polpação soda 6. Explosão a vapor 7. Estrutura química. I. Título. II. Gonçalves, Adilson Roberto, orient.

547.992 - CDU

*Ao meu avô Milton, que fez minha infância
tão feliz e me apresentou aos
caminhos da honestidade e persistência.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Lilian e Maurício e à minha irmã Ana Beatriz por todo amor, apoio e incentivo sempre;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Adilson Roberto Gonçalves, pelos valiosos ensinamentos ao longo de tantos anos, pela paciência e confiança em mim depositadas;

À querida amiga, Profa. Dra. Érica Romão, pela amizade verdadeira, por nossas viagens e discussões sobre este e tantos outros trabalhos;

À Profa. Dra. Jayne Barbosa e à amiga Profa. MSc. Flávia Vitoretti, pela grande ajuda com as análises;

Ao amigo Filipe Emerik, que foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho, na execução dos experimentos e discussão dos resultados;

Aos companheiros do GCBM: Patrícia e Rafael, pelos mais de 10 anos de amizade e bons momentos, Fernanda, Naila, Cibele, José Carlos, Priscila, Guilherme, William, Karen, Juliana e Mariana pela amizade e apoio constante;

Aos grandes amigos e segunda família Anderson Carmo, Bruno Santos, Heitor Buzetti e Thiago Ribeiro, por fazerem os meus dias tão melhores e, em especial, ao amigo Thiago Vieira, que também escreveu o Abstract, pela parceria e convivência ao longo de tanto tempo. Vocês fazem a minha vida melhor e me sinto abençoado por tê-los perto;

Aos colegas do UniFOA, pela acolhida, apoio e amizade;

Aos funcionários da Escola de Engenharia de Lorena, em especial, à Sandra, Bia, Cida e Regina Horta, por toda a gentileza e eficiência;

Aos amigos.

*“Não desistiremos de explorar
e o fim de toda nossa exploração
será chegarmos ao lugar de onde partimos
e conhecê-lo pela primeira vez”*

T. S. Eliot

RESUMO

GAMBARATO, B. C. **Isolamento e caracterização de ligninas de palha de cana-de-açúcar**. 2014. 106p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

Neste trabalho, foi realizada a caracterização de ligninas de palha de cana-de-açúcar. O isolamento das ligninas se deu por acidólise branda e por polpação soda, precedida ou não por pré-tratamento com ácido diluído ou por explosão a vapor. A palha de cana e as ligninas foram caracterizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Espectrometria no Infravermelho (FT-IR) e no Ultravioleta (UV), por Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (^1H RMN), Cromatografia de Permeação em Gel (GPC), Análise Termogravimétrica (TGA) e Calorimétrica (DSC), Análise Elementar e de Poder Calorífico Superior (PCS). A lignina técnica isolada por acidólise branda apresentou fórmula $\text{C}_9\text{H}_{2,31}^{\text{ar}}\text{H}_{4,14}^{\text{al}}\text{O}_{1,27}(\text{OH})_{0,58}^{\text{ph}}(\text{OH})_{1,19}^{\text{al}}(\text{OCH}_3)_{1,11}$ e relação H:G:S de 1 : 3,22 : 3,68, com 20% de condensação e massa molar média de 1908 Da. A cinética de termodegradação dessa lignina em atmosfera inerte se deu com energia de ativação de $13,80 \text{ kJ.mol}^{-1}$, constante pré-exponencial $0,4799 \text{ min}^{-1}$ e 42% em massa de carvão residual. Foram determinados, ainda, o coeficiente de extinção a 280 nm de $26,03 \text{ L.g}^{-1}$ e o Poder Calorífico Superior de $23,72 \text{ kJ.g}^{-1}$. A partir das informações obtidas em todas as análises, foi proposta uma estrutura para esta lignina. A deslignificação via polpação soda mostrou-se eficiente na remoção da lignina da matriz e foi verificado que, durante o processo, ocorre o rompimento de ligações entre a lignina e carboidratos, entretanto, algumas dessas ligações não são rompidas e o resíduo do processo, denominado lignina, contém cerca de 17% de carboidratos. A lignina soda apresentou poder calorífico superior de $25,14 \text{ kJ.g}^{-1}$, 36% em massa de carvão residual e cinética de termodegradação com energia de ativação de $12,73 \text{ kJ.mol}^{-1}$ e $k_0=0,4195 \text{ min}^{-1}$. Foi verificado que as polpas soda que sofreram pré-tratamentos apresentaram um menor teor de lignina e maior solubilização de hemiceluloses. Estes tratamentos se mostraram eficientes na hidrólise dos complexos lignina-carboidrato e as ligninas obtidas apresentaram os menores teores de carboidrato residual e características estruturais diferentes das demais, mostrando-se mais condensadas em função das reações que ocorrem em meio ácido. Os coeficientes de extinção a 280 nm foram iguais a $24,2 \text{ L.g}^{-1}$ e $23,3 \text{ L.g}^{-1}$, respectivamente para as ligninas de explosão a vapor e pré-tratamento ácido e suas fórmulas estruturais determinadas por ^1H RMN foram, respectivamente,

$$\text{C}_9\text{H}_{1,59}^{\text{ar}}\text{H}_{4,12}^{\text{al}}\text{O}_{0,84}(\text{OH})_{0,61}^{\text{ph}}(\text{OH})_{0,88}^{\text{al}}(\text{OCH}_3)_{1,51} \quad \text{e}$$
$$\text{C}_9\text{H}_{2,12}^{\text{ar}}\text{H}_{4,23}^{\text{al}}\text{O}_{1,64}(\text{OH})_{0,83}^{\text{ph}}(\text{OH})_{0,58}^{\text{al}}(\text{OCH}_3)_{1,10}.$$

Palavras-chave: Lignina. Palha de cana-de-açúcar. Análise espectroscópica. Estrutura química. Polpação soda. Pré-tratamento ácido. Explosão a vapor.

ABSTRACT

GAMBARATO, B. C. **Isolation and characterisation of lignins of sugarcane straw**. 2014. 106p. Thesis (Doctor of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

In this work, the characterisation of lignins of sugarcane straw was made. The lignins were isolated by moderate acidolysis and soda process, preceded or not by either diluted acid or steam explosion pretreatments. The sugarcane straw and the lignins were characterised by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Infrared (FT-IR) and Ultraviolet (UV) Spectrometry, Proton Nuclear Magnetic Resonance (^1H -RMN), Gel Permeation Chromatography (GPC), Thermogravimetric analysis (TGA) and Differential Scattering Calorimetry (DSC), Elemental Analysis and Heat Power (HP). The technical lignin isolated by moderate acidolysis has the formula $C_9H_{2.31}^{ar}H_{4.14}^{al}O_{1.27}(OH)_{0.58}^{ph}(OH)_{1.19}^{al}(OCH_3)_{1.11}$, H:G:S ratio of 1: 3.22: 3.68, is 20% condensed and its average molecular weight is 1908 Da. The thermal degradation kinetics analysis of this lignin in inert atmosphere was carried out, the results obtained were: activation energy of $13.80 \text{ kJ.mol}^{-1}$, pre-exponential constant of 0.4799 min^{-1} and 42% residual char. The extinction coefficient obtained at 280 nm was 26.03 L.g^{-1} and the heat power 23.72 kJ.g^{-1} . A structure was proposed for this lignin based on all the information obtained from these analyses. The delignification via soda process was efficient at removing lignin; during the process, the breaking of bonds between the lignin and carbohydrates was noticed, nevertheless, some of these bonds were not broken and the process residue, hereinafter called lignin, contains about 17% carbohydrates. The soda lignin has heat power of 25.14 kJ.g^{-1} , 36% residual char and the thermal degradation kinetics occurred with activation energy of $12.73 \text{ kJ.mol}^{-1}$ and $k_0 = 0.4195 \text{ min}^{-1}$. It was found that pretreated soda pulps have a lower lignin content and higher solubilisation of hemicelluloses. These treatments were efficient in the hydrolysis of lignin-carbohydrates complexes, the lignins obtained had the lowest residual carbohydrates contents and different structural features from the untreated ones, being more condensed due to the reactions that occur in acid medium. The extinction coefficients at 280 nm obtained are 24.2 L.g^{-1} and 23.3 L.g^{-1} , the structural formulas determined by ^1H RMN are $C_9H_{1.59}^{ar}H_{4.12}^{al}O_{0.84}(OH)_{0.61}^{ph}(OH)_{0.88}^{al}(OCH_3)_{1.51}$ and $C_9H_{2.12}^{ar}H_{4.23}^{al}O_{1.64}(OH)_{0.83}^{ph}(OH)_{0.58}^{al}(OCH_3)_{1.10}$ for the steam explosion and acid pretreatment lignins, respectively.

Keywords: Lignin. Sugarcane straw. Spectroscopic characterization. Chemical structure. Soda process (pulp). Acid pretreatment. Steam explosion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2. 1 – Palha de cana-de-açúcar	17
Figura 2. 2 – Modelo da estrutura da parede celular de traqueídes de madeira mole e de fibras libriformes de madeira dura. LM = lamela média; P = parede primária; S1 e S2 = paredes secundárias, T = parede terciária).....	18
Figura 2. 3 - Estrutura da celulose	19
Figura 2. 4 - Ligações de hidrogênio entre as cadeias de celulose	20
Figura 2. 5 - Formas sugeridas para fibrilas de celulose de diferentes fontes.....	20
Figura 2. 6 - Representação esquemática de uma xilana de gramínea mostrando alguns grupos substituintes. Xyl = D-xilopirranose; Ara = L arabinofuranose; (4 Me)-GlcA = ácido (4-O-metil)-D-glicopirranurônico; Ac = acetil; FA = ácido ferúlico; DDFA = ácido desidroferúlico.....	21
Figura 2. 7 - Unidades de fenilpropano precursoras da lignina	23
Figura 2. 8 - Precursores incomuns de ligninas.....	23
Figura 2. 9 - Biossíntese da Lignina	24
Figura 2. 10 - Geração enzimática de estruturas de ressonância do radical fenoxi.....	25
Figura 2. 11 - Subestruturas contendo os principais tipos de ligações em ligninas.....	26
Figura 2. 12 - Estrutura da lignina de palha de trigo.....	26
Figura 2. 13 - Distribuição da lignina e polissacarídeos em nível molecular.....	27
Figura 2. 14 - Complexos Lignina-Fenólico-Carboidratos em palha de trigo	28
Figura 2. 15 - A estrutura de uma lignina de kenaf acetilada	29
Figura 2. 16 - Mecanismos de lignificação envolvendo ferulatos	29
Figura 2. 17 - Incorporação de diferulatos em ligninas.....	30
Figura 2. 18 - Dibenzodioxocinas e arilisocromanas em ligninas.....	30
Figura 2. 19 - Formação de metileno quinonas em meio alcalino	32
Figura 2. 20 - Formação de estruturas do tipo estilbeno.....	33
Figura 2. 21 - Clivagem das ligações éter no carbono beta em estruturas não fenólicas em meio alcalino ...	33
Figura 2. 22 – Formação de furfural e ácido fórmico a partir da xilose	34
Figura 2. 23 - Formação de hidroximetilfurfural e ácido fórmico a partir de glicose	35
Figura 2. 24 – Reações de uma estrutura genérica de lignina em meio ácido via formação de íon carbônio.	36
Figura 2. 25 – Fragmentação da lignina e repolimerização com furfural ou hidroximetilfurfural durante o pré-tratamento ácido.....	37
Figura 2. 26 – Hidrólise dos polissacarídeos e formação de subprodutos durante o pré-tratamento por explosão a vapor	38
Figura 2. 27– Padrão de degradação da lignina durante a explosão a vapor..	39
Figura 5. 1 - Espectro de FTIR da lignina obtida por acidólise branda da palha	52
Figura 5. 2 - Espectro de ¹ H RMN da lignina de acidólise.....	55

Figura 5. 3 – Ligações (a) 5-5', (b) β -5' e (c) β -1'	56
Figura 5. 4 - Curva termogravimétrica (TG) da lignina de palha obtida por acidólise e sua derivada (DTG) ...	58
Figura 5. 5 - Curva de DSC da lignina de palha obtida por acidólise	59
Figura 5. 6 - Representação da linearização do modelo cinético - Equação 5.17.....	61
Figura 5. 7 - Espectro de absorção de luz UV-visível para a lignina obtida por acidólise	63
Figura 5. 8 - Distribuição de massa molar da fração de lignina de palha de cana solúvel em THF.....	64
Figura 5. 9 - Esboço da estrutura média da lignina de palha de acidólise	65
Figura 5. 10 - Condensação primária de fragmentos de lignina em meio alcalino.....	67
Figura 5. 11 - Condensação secundária de fragmentos de lignina em meio alcalino.....	68
Figura 5. 12 - Condensação de fragmentos de lignina em meio alcalino com formaldeído.....	68
Figura 5. 13 - Representação do ajuste dos dados da deslignificação ao modelo cinético	69
Figura 5. 14 - Espectros de FT-IR das ligninas Soda	71
Figura 5. 15 - Espectro de FT-IR das ligninas Soda de 15 a 60 minutos	72
Figura 5. 16 - Comparação dos espectros de FT-IR das ligninas Soda de 60 e 120 minutos.....	73
Figura 5. 17 - Comparação dos espectros de FT-IR das ligninas Soda 1% e 5%	74
Figura 5. 18 - Espectros de ^1H RMN das ligninas Soda acetiladas	76
Figura 5. 19 - Espectro de UV-visível das ligninas Soda	78
Figura 5. 20 - Curva termogravimétrica (TG) das ligninas Soda e sua derivada (DTG)	79
Figura 5. 21 - Curva de DSC das ligninas Soda	80
Figura 5. 22 - Representação da linearização do modelo cinético para a lignina Soda 60 min	80
Figura 5. 23 - Espectros de FTIR da lignina Soda e da lignina Explosão a Vapor.....	82
Figura 5. 24 - Espectros de FT-IR da lignina Soda e da lignina PT Ácido	83
Figura 5. 25 - Competição entre a clivagem de ligações β -O-4 e a condensação em meio ácido	83
Figura 5. 26 - Espectros de ^1H RMN das ligninas de palha que sofreram pré-tratamentos.....	85
Figura 5. 27 - Espectros de UV das ligninas de palha que sofreram pré-tratamentos	87
Figura 5. 28 - Curvas termogravimétricas (TG) das ligninas que sofreram pré-tratamento e suas derivadas (DTG)	88
Figura 5. 29 – Curvas de DSC das ligninas que sofreram pré-tratamentos.....	88
Figura 5. 30 - Representação da linearização do modelo cinético para a lignina Soda 60 min	89

SUMÁRIO

1. Introdução.....	15
2. Revisão Bibliográfica	17
2.1 Cana-de-açúcar e seus resíduos.....	17
2.2 Materiais Lignocelulósicos	18
2.2.1 Celulose	19
2.2.2 Hemiceluloses	21
2.3 Lignina	22
2.3.1 Ligninas de gramíneas.....	27
2.3.2 Grupos acila, ferulatos, diferulatos e outros componentes	28
2.4 Separação dos componentes lignocelulósicos.....	31
2.4.1 Polpação Soda	32
2.4.2 Pré-tratamento com ácido diluído	34
2.4.3 Pré-tratamento por Explosão a Vapor	37
3. Objetivos	41
3.1 Objetivo Geral	41
3.2 Objetivos específicos.....	41
4. Materiais e Métodos	42
4.1 - Obtenção das ligninas	42
4.1.1 Isolamento de ligninas por acidólise branda	43
4.1.2 Polpação soda	43
4.1.3 Pré-tratamento com ácido diluído.....	44
4.1.4 Pré-tratamento por explosão a vapor.....	44
4.2 – Caracterização Química dos Materiais Lignocelulósicos.....	44
4.2.1 Determinação de carboidratos e ácidos orgânicos por CLAE	45
4.2.2 Determinação de lignina insolúvel em meio ácido	45
4.2.3 Determinação do teor de cinzas da lignina.....	45
4.2.4 Determinação de lignina solúvel.....	45
4.2.5 Determinação de furfural e hidroximetilfurfural	46
4.3 – Caracterização das ligninas	46
4.3.1 Espectrometria no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	46
4.3.2 Espectrometria no Ultravioleta.....	47
4.3.3 Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (¹ H RMN).....	47
4.3.4 Análise Termogravimétrica (TGA)	48

4.3.5 Análise Elementar.....	49
4.3.6 Determinação de Poder Calorífico Superior.....	49
4.3.7 Cromatografia de Permeação em Gel.....	49
5. Resultados e Discussão.....	50
5.1 Caracterização da palha.....	50
5.2 Lignina obtida por acidólise branda	51
5.2.1 Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR).....	52
5.2.2 Análise Elementar e Poder Calorífico Superior	53
5.2.3 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (¹ H RMN).....	54
5.2.4 Determinação da relação <i>H: G: S</i>	56
5.2.6 Análise Termogravimétrica e Calorimétrica	58
5.2.7 Cinética de termodegradação	59
5.2.8 Espectrometria de UV-visível	62
5.2.9 Distribuição de Massa Molar	63
5.2.10 Estimativa da estrutura da lignina	64
5.3 Polpação Soda	66
5.3.1 Cinética de dissolução da lignina em meio alcalino	68
5.4 Caracterização das Ligninas Soda	70
5.4.1 Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR).....	70
5.4.2 Análise Elementar e Poder Calorífico Superior	74
5.4.2 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons	76
5.4.3 Espectrometria de UV.....	77
5.4.4 Análise Termogravimétrica e Calorimétrica	78
5.5 Caracterização das ligninas de palha que sofreram pré-tratamentos	81
5.5.1 Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier	82
5.5.2 Análise Elementar e Poder Calorífico Superior	84
5.5.3 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons	85
5.5.4 Espectrometria de UV-visível	87
5.5.5 Análise Termogravimétrica e Calorimétrica	87
6. Considerações Finais	90
Referências	94

1. Introdução

O aumento da demanda mundial de energia, os recursos petrolíferos instáveis e caros e a preocupação com as mudanças climáticas globais têm levado ao desenvolvimento de fontes de energia renováveis, que podem complementar o uso dos combustíveis fósseis (RAGAUSKAS et al., 2006; HIMMEL et al., 2007). Como resultado, a transição global para uma economia baseada em recursos renováveis levará a uma redução no consumo de combustíveis fósseis e mais participação de outras formas de energia na matriz energética mundial, como a nuclear, solar, hidrogênio, eólica e, particularmente, os biocombustíveis.

O Brasil é um grande produtor de etanol, combustível que tem se mostrado como uma boa escolha como fonte de energia renovável devido ao seu elevado grau de octanagem, calor de vaporização e compatibilidade com veículos modernos. No processamento da cana, tanto para a geração de etanol quanto para a produção de açúcar, são gerados grandes volumes de resíduos, principalmente bagaço e palha. A obtenção de produtos e insumos químicos a partir desses resíduos é uma estratégia atraente, considerando o baixo custo de matéria-prima e a adequação às novas políticas ambientais. Assim, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos no sentido de viabilizar a produção de etanol de segunda geração, bem como a obtenção de produtos de maior valor agregado a partir de biomassas lignocelulósicas como os resíduos da cana, com a construção de biorrefinarias integradas.

Do processamento dos lignocelulósicos, o principal resíduo é a lignina, uma macromolécula de natureza polifenólica complexa, que, dentre outras funções, atua na proteção contra o ataque de microrganismos e na resistência mecânica do vegetal. Trata-se do terceiro polímero mais abundante na natureza, depois da celulose e das hemiceluloses. Na utilização da biomassa lignocelulósica, a lignina não é somente o resíduo, mas também o alvo da maioria dos tratamentos químicos e físicos dados aos materiais (HU; RAGAUSKAS, 2012). Dessa forma, o interesse em ligninas de plantas anuais tem crescido nos últimos anos. Isso porque a digestibilidade enzimática da biomassa depende fortemente do teor e das características físico-químicas da lignina na planta (LIU; WYMAN, 2003) e também porque a conversão da lignina em produtos industriais como vanilina, ácido ferúlico, vinil guaiacol, ligninas opticamente ativas e energia representa uma oportunidade para a indústria química (BURANOV; MAZZA, 2008).

Assim, o conhecimento das características estruturais da lignina é de fundamental importância no desenvolvimento de novas tecnologias de conversão de biomassa. O isolamento e a caracterização da lignina de diferentes materiais lignocelulósicos têm sido tema de diversos trabalhos encontrados na literatura, principalmente com relação a madeiras duras e madeiras

moles. Entretanto, informações acerca das características de ligninas de gramíneas e, principalmente, de palhas de gramíneas como a palha de cana, ainda são escassas, tornando necessária uma investigação mais aprofundada, uma vez que a lignina é uma molécula de constituição difícil de ser estabelecida, por causa não somente da complexidade de sua formação, mas também porque sofre alterações durante seu isolamento das paredes celulares. Dessa forma, este trabalho se propõe a caracterizar a lignina da palha de cana, de modo a compreender melhor sua estrutura bem como as modificações envolvidas nos principais tratamentos químicos.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Cana-de-açúcar e seus resíduos

A cana-de-açúcar é uma planta semiperene com ciclo fotossintético do tipo C4, pertencente ao gênero *Saccharum*, da família das gramíneas, composta de espécies de gramas altas perenes, oriundas das regiões temperadas quentes a tropicais da Ásia, especialmente da Índia. No Brasil, a cana-de-açúcar é utilizada principalmente para obter açúcar e etanol e figura entre as maiores monoculturas nacionais. Estima-se que, na safra 2013/2014, o Brasil produziu 653 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, gerando aproximadamente 180 milhões de toneladas de resíduos (bagaço e palha) (UNICA, 2014).

O processamento de uma tonelada de cana gera cerca de 140 kg de bagaço e 140 kg de palha (Seabra, 2008). A palha (Figura 2.1) se constitui de tudo o que é deixado no campo após a colheita mecanizada. Isso inclui não somente as folhas secas, mas também as verdes e o “ponteiro” (topo) da planta. Quando parte da palha é deixada na superfície do solo, esta atua na melhoria de sua fertilidade, retornando os nutrientes via processo de mineralização, no controle de processos erosivos e na maior retenção de água, além de propiciar uma melhoria na microbiota do solo (BERTONCINI, 2008).

Figura 2. 1 – Palha de cana-de-açúcar. Fonte: CPT (2011)

Um grande problema associado à palha da cana é a fuligem liberada no meio ambiente durante a sua queima no campo, na época da colheita, e pousa no chão na forma de finos blocos escuros. A queima da palha leva para a atmosfera gases tóxicos, como gás carbônico, ozônio, gases de nitrogênio e de enxofre, o que contribui para a poluição do ambiente. Frente a esse problema, o decreto nº 47.700 regulamentou a Lei número 11.241, de 19 de setembro de 2002, que dispõe sobre a eliminação gradativa da queima da palha da cana, sendo que, até 2021, toda a área mecanizável terá 100% da queima eliminada e, até 2031, a queima será erradicada das áreas não mecanizáveis (IMPrensa Oficial, 2003).

Com os avanços já obtidos com a aplicação desta lei, a estimativa do governo é de que deixaram de ser jogados na atmosfera 16,7 milhões de toneladas de poluentes, sendo 2,7 milhões de CO₂ equivalente (BRASILAGRO, 2012). Como consequência, há a necessidade de um reaproveitamento da palha excedente. O que fazer com esses resíduos vem sendo objeto de muitos estudos e experiências em um setor que, nos últimos anos, destacou-se pela capacidade de transformar restos em subprodutos valorizados. O Grupo de Conversão de Biomassa, Modelagem e Simulação da Escola de Engenharia de Lorena – USP tem estudado estratégias de conversão, aproveitamento e geração de produtos de alto valor agregado a partir dos resíduos da cana, materiais lignocelulósicos constituídos principalmente de celulose, polioses e lignina.

2.2 Materiais Lignocelulósicos

Os materiais lignocelulósicos, também chamados de biomassas vegetais ou fitobiomassas, são constituídos principalmente por três componentes: celulose, hemiceluloses (ou polioses) e lignina. A proporção de cada componente difere de planta para planta. Outros compostos, encontrados em menor quantidade, correspondem aos extrativos, amido, proteínas, cinzas inorgânicas e ácidos graxos (FENGEL; WEGENER, 1989).

Figura 2. 2 – Modelo da estrutura da parede celular de traqueídes de madeira mole e de fibras libriformes de madeira dura. LM = lamela média; P = parede primária; S1 e S2 = paredes secundárias, T = parede terciária. Fonte: Adaptada de Fengel e Wegener (1989)

A celulose é o principal componente estrutural e as hemiceluloses e a lignina são chamadas de componentes subestruturais. Quando as polioses e a lignina são removidas, a textura do elemento celulósico, chamado fibrila, é visível. Várias observações em microscópio eletrônico deram origem ao modelo de construção da parede celular de madeiras, mostrado na Figura 2.2. A estrutura da parede celular é subdividida em parede primária (P), paredes secundárias (S1 e S2) e parede terciária (T). As células encontram-se separadas pela lamela média (LM), que é

uma camada fina, composta por elevada concentração de lignina. A celulose e as hemiceluloses predominam na região da parede celular e a lignina se distribui por toda a estrutura, apresentando máxima concentração na lamela média.

2.2.1 Celulose

A celulose é um polímero linear constituído de unidades de glicose ligadas por ligações éter do tipo $\beta(1-4)$, que são formadas por meio da liberação de uma molécula de água a partir das hidroxilas dos carbonos 1 e 4 de duas unidades de glicose. A unidade repetitiva do polímero é a celobiose, mostrada na Figura 2.3. O grau de polimerização é geralmente muito alto, podendo atingir valores de cerca de 15000 resíduos em uma única cadeia, colocando a cadeia de celulose dentre as mais longas entre os polissacarídeos conhecidos (HENRIKSSON; LENNHOLM, 2009). Devido à linearidade das cadeias, as moléculas adjacentes formam uma rede de agregados, denominados microfibrilas, insolúveis em água, com comprimento e largura variados.

Figura 2. 3 - Estrutura da celulose

As microfibrilas apresentam regiões cristalinas e amorfas (FENGEL; WEGENER, 1989). As ligações de hidrogênio inter e intramoleculares mostradas na Figura 2.4 são responsáveis pela manutenção da estrutura cristalina e tornam a celulose resistente à hidrólise ácida, alcalina ou enzimática (HENRIKSSON; LENNHOLM, 2009; WOOD; SADDLER, 1988; CONVERSE; WARE, 1994).

Figura 2. 4 - Ligações de hidrogênio entre as cadeias de celulose. Fonte: Henriksson e Lennholm (2009).

O tamanho das microfibrilas varia entre diferentes organismos e entre diferentes tecidos e pode variar ainda em diferentes camadas da parede celular. É comum assumir que, para plantas, cerca de 36 cadeias de celulose formam uma fibrila, podendo este número variar consideravelmente. No entanto, em outros organismos, como *Acetobacter*, as fibrilas podem ocorrer em estruturas mais planas, apresentando a forma de uma longa faixa (HENRIKSSON; LENNHOLM, 2009). A Figura 2.5 mostra algumas sugestões acerca das dimensões das fibrilas em alguns organismos.

Figura 2. 5 - Formas sugeridas para fibrilas de celulose. Fonte: Henriksson e Lennholm (2009)

2.2.2 Hemiceluloses

Hemiceluloses, também chamadas de polioses, em geral, são formadas por polímeros amorfos, constituídos de 80 a 200 unidades de resíduos de açúcar, dos quais se destacam as pentoses (D-xilose, L-arabinose e L-ramnose), hexoses (D-glicose, D-manose e D-galactose) e ácidos urônicos (ácidos 4-O-metil-D-glucurônico e D-galacturônico) (Teleman, 2009). A cadeia de hemicelulose pode ser constituída por um único monossacarídeo, como é o caso das xilanas), ou por duas ou mais unidades, como as xiloglucanas, 4-O-metilglucuronoxilanas, acetilglucomanas. A constituição desse polissacarídeo tem relação com o tipo de tecido vegetal que faz parte e da espécie de planta a que pertence (FENGEL; WEGENER, 1989).

As hemiceluloses apresentam um papel importante, ainda que não completamente elucidado, na determinação das propriedades mecânicas da parede celular. O padrão estrutural pode ter relevância nas interações supramoleculares, que ocorrem na parede secundária. É possível que as hemiceluloses sirvam como uma interface entre a celulose e a lignina, facilitando a incrustação das fibrilas. Elas podem, ainda, estar relacionadas à manutenção do espaçamento das fibrilas de celulose e à regulação da porosidade e resistência da parede celular (TELEMAN, 2009).

As polioses são classificadas basicamente de acordo com os carboidratos pertencentes à cadeia principal do polímero: xilanas, mananas, glucanas, galactanas e pectinas. Nos resíduos da cana, a xilana é a hemicelulose presente em maior proporção (ROCHA et al., 1997). A representação esquemática de uma xilana típica de gramíneas está mostrada na Figura 2.6.

Figura 2.6 - Representação esquemática de uma xilana de gramínea mostrando alguns grupos substituintes. Xyl = D-xilopiranosose; Ara = L-arabinofuranose; (4 Me)-GlcA = ácido (4-O-metil)-D-glicopiranurônico; Ac = acetil; FA = ácido ferúlico; DDFA = ácido desidroferúlico. Fonte: McDOUGALL et al. (1993)

As ramificações da cadeia principal, também chamadas de decorações, determinam a solubilidade, a conformação física da molécula com os demais componentes lignocelulósicos e influenciam no modo e na extensão da hidrólise química e enzimática (KULKARNI et al., 1999). Ainda, comparada à celulose, apresenta maior reatividade devido à maior acessibilidade pelos reagentes, por exemplo, na hidrólise ácida, por ser amorfa e apresentar grande polidispersidade (FENGEL; WEGENER, 1989).

2.3 Lignina

A palavra lignina vem do latim *lignum*, que significa madeira. Trata-se de um dos principais componentes dos tecidos de gimnospermas e angiospermas, ocorrendo em vegetais e tecidos vasculares. Sabe-se que a lignina tem um importante papel no transporte de água, nutrientes e metabólitos, sendo responsável pela resistência mecânica de vegetais, além de proteger os tecidos contra o ataque de microrganismos (FENGEL; WEGENER, 1989). Estima-se que haja cerca de 300 bilhões de toneladas de lignina no planeta, com uma taxa de biossíntese em torno de 20 bilhões de toneladas por ano (ARGYROPOULOS; MENACHEM, 1998)

A lignina é uma macromolécula natural de estrutura bastante complexa. Não é um polímero linear como a celulose ou um polímero ramificado como as hemiceluloses, mas sim uma rede tridimensional com as subunidades ligadas por ligações do tipo éter (C-O-C) e carbono-carbono (C-C) distribuídas aleatoriamente. A estrutura e as propriedades da lignina são de grande interesse para a indústria de celulose, uma vez que a polpação química e as etapas de branqueamento são baseadas, principalmente, em reações com lignina e compostos de degradação de lignina (HENRIKSSON, 2009). Além disso, dentro do conceito de biorrefinaria, a lignina tem um papel importante, pois, a partir dela, é possível produzir uma gama imensa de compostos, por meio de reações de oxidação, hidrólise, hidrogenólise, dentre outras (LAURICHESSE; AVÉROUS, 2014; SCHUCHARDT *et al.*, 2001; GONÇALVES, 1995).

Muitos pontos relativos principalmente à estrutura da lignina permanecem em dúvida. Isto decorre da grande diversidade das estruturas das ligninas quando se passa de uma espécie vegetal para outra ou, até mesmo, dentro da mesma espécie, quando são analisadas partes diferentes do vegetal. Essa diversidade de estruturas se dá principalmente pela natureza aleatória do acoplamento dos monômeros de lignina, via polimerização radicalar dos alcoóis p-cumarílico, sinapílico e coniferílico (Figura 2.7). São compostos fenilpropanóides e diferem uns dos outros pela presença e quantidade de grupos metoxila ligados no anel aromático. Outros compostos fenilpropanóides, como os mostrados na Figura 2.8, também podem atuar como monômeros na

formação da lignina, principalmente em gramíneas (HENRIKSSON, 2009). A proporção entre os precursores varia entre as diferentes espécies de plantas e a razão entre eles tem sido usada para fins taxonômicos (FENGEL; WEGENER, 1989). As ligninas de madeiras duras apresentam, em sua composição, além de grupos guaiacil, proporções mais altas de grupos siringil, enquanto as ligninas de madeiras moles são mais ricas em grupos guaiacil. As ligninas de gramíneas apresentam grupos p-cumaril, além de grupos siringil e guaiacil (HENRIKSSON, 2009).

Figura 2. 7 - Unidades de fenilpropano precursoras da lignina

Figura 2. 8 - Precursores incomuns de ligninas

Os monômeros precursores da lignina são biossintetizados a partir da fenilalanina, utilizando o poder redutor proveniente de duas moléculas de NADPH e consumindo um ATP no processo, como mostra a Figura 2.9 (HENRIKSSON, 2009; FREUDENBERG, 1959).

Figura 2. 9 - Biossíntese da Lignina. Fonte: Adaptada de Henriksson (2009)

A polimerização da lignina a partir dos alcoóis precursores se processa por meio da abstração enzimática de um próton e um elétron formando radicais fenóxi. A Figura 2.10 mostra as estruturas de ressonância do radical fenóxi formado a partir do álcool coniferílico. O acoplamento posterior se dá de forma aleatória, sem controle enzimático. Formam-se primeiro dímeros, que se acoplam aos radicais monoméricos, formando trímeros, tetrâmeros até se chegar numa estrutura maior, com diversas unidades (GONÇALVES, 1995). Como o acoplamento pode ocorrer em diversos pontos da molécula, são formados diferentes tipos de ligação entre essas estruturas, como mostra a Figura 2.11. Isto confere uma estrutura aleatória e bastante reticulada para a macromolécula de lignina, como pode ser visto na Figura 2.12.

Figura 2. 10 - Geração enzimática de estruturas de ressonância do radical fenóxi. Fonte: Henriksson (2009)

Figura 2. 11 - Subestruturas contendo os principais tipos de ligações em ligninas

Figura 2. 12 - Estrutura da lignina de palha de trigo. Fonte: Adaptada de Sun et al. (1997)

As interações entre a lignina, a celulose e as polioses determinam a ultraestrutura da parede celular dos materiais lignocelulósicos. A Figura 2.13 mostra a distribuição da lignina e dos polissacarídeos em nível molecular. Este modelo para as camadas S2 é baseado nos estudos de Lawoko et al. (2003). Segundo este estudo, acredita-se que a maior parte da lignina esteja

localizada entre as cadeias de hemiceluloses, embora haja algumas ligações diretas entre a lignina e a celulose (HENRIKSSON, 2009).

Figura 2. 13 - Distribuição da lignina e polissacarídeos em nível molecular. Fonte: Henriksson (2009)

2.3.1 Ligninas de gramíneas

Os estudos sobre a estrutura de ligninas e reações envolvidas no seu isolamento, até os anos 90, tratam principalmente da lignina como um subproduto da indústria de papel e celulose. Os livros e revisões sobre lignina mais citados (ADLER, 1977; FENGEL; WEGENER, 1989; LEWIS; YAMAMOTO, 1990; ARGYROPOULOS; MENACHEM, 1998; DIMMEL, 2010) focam seus estudos principalmente em ligninas de madeiras e fornecem informações excelentes acerca de generalidades sobre todos os tipos de ligninas e processos (BURANOV; MAZZA, 2008). Entretanto, as informações sobre ligninas de gramíneas são limitadas nessas referências. Estudos com foco na estrutura e propriedades de ligninas de gramíneas e de resíduos do processamento industrial dessas plantas cresceram a partir do final dos anos 90, graças ao interesse na produção de bioetanol a partir de plantas de ciclo anual. A estrutura das ligninas de gramíneas, principalmente das palhas de gramíneas, ainda não é bem elucidada, uma vez que essas ligninas apresentam certas diferenças estruturais com relação às ligninas de madeiras (BURANOV; MAZZA, 2008).

A lignina está sempre associada com carboidratos, principalmente com as hemiceluloses, via ligação covalente no carbono α e no carbono 4 e essa associação é denominada Complexo Lignina-Carboidrato (CLC). Em gramíneas, os ácidos hidroxicinâmicos (p-cumárico e ferúlico) fazem a ligação entre a lignina e as hemiceluloses, formando os denominados Complexos Lignina-Fenólico-Carboidrato, mais comumente chamados de CLC de gramíneas ou Complexos-Lignina-

Ferulato-Carboidrato (CLFC) (BAUCHER et al., 1998; SUN et al., 2002). A Figura 2.14 ilustra esses complexos.

Figura 2. 14 - Complexos Lignina-Fenólico-Carboidratos em palha de trigo. Fonte: Sun et al. (1997)

Nos complexos Lignina-Carboidrato de gramíneas, o ácido ferúlico está ligado à lignina por uma ligação éter e ao carboidrato (arabinoxilanas, principalmente) por ligação éster álcali-lábil ou por ligações álcali-estáveis, como as ligações fenilglicosídicas e benzil-eter (FORD, 1990). Esses complexos podem apresentar diferentes teores de lignina e carboidratos, variando de acordo com a espécie, a região e o tamanho das cadeias de lignina. Azuma e Koshimijima (1988) caracterizaram o CLC da palha de arroz e verificaram que este material contém 63,9% de carboidratos (80,1% de xilose, 13% de arabinose, 4,3% de glicose, 2,3% de galactose e 0,4% de manose), 2,8% de ácidos urônicos, 27,7% de lignina Klason, 4,2% de acetil, 4% de ácido trans p-cumárico e 0,8% de ácido trans-ferúlico. Chesson (1993) estudou esses complexos em ligninas de azevem (*Lolium*) encontrou um teor de lignina de 85% e a fração de carboidratos composta por xilose e glicose, principalmente.

A presença da associação de componentes fenólicos com carboidratos representa a maior barreira para a sua utilização (BURANOV; MAZZA, 2008). No entanto, as causas dessa barreira ainda são questionáveis e podem ser os polifenóis, oligômeros fenólicos ou monofenóis, dependendo da espécie, da região e maturidade da planta (HIMMELSBACH, 1993). Assim, tecnologias específicas de fracionamento devem ser concebidas para cada espécie de gramínea (ou resíduo), tornando de extrema importância o conhecimento da estrutura da lignina dessas plantas.

2.3.2 Grupos acila, ferulatos, diferulatos e outros componentes

Ligninas de tecidos não lenhosos podem ocorrer em formas naturalmente acetiladas, cumariladas e/ou p-hidroxibenzoiladas, como mostra a estrutura da Figura 2.15. Todas as

gramíneas apresentam ligninas aciladas pelo ácido p-cumárico no carbono γ de cadeias laterais (NAKAMURA; HIGUCHI, 1976). Estudos recentes de ressonância magnética nuclear com ligninas de plantas como milho, trigo e outras gramíneas confirmam esse fato e postulam que a acilação ocorre exclusivamente na posição γ de unidades do tipo S (GRABBER et al., 1996; CRESTINI; ARGYROPOULOS, 1997; RALPH et al., 1999; RALPH, 1999).

Figura 2. 15 - A estrutura de uma lignina de kenaf acetilada. Fonte: Adaptada de Ralph (1996)

Ferulatos e diferulatos se comportam como monômeros de lignina e se ligam às unidades de lignina via processo radicalar em gramíneas. Foi postulado que os ferulatos estão associados ao processo de lignificação em gramíneas e que esses compostos atuam como sítios nucleadores para a formação da lignina, permitindo a grande ocorrência de copolimerização, o que auxilia a fixação da lignina na parede celular nos estágios iniciais de lignificação. Assim, ferulatos podem ser considerados como componentes naturais de ligninas de gramíneas (ISHII, 1997; RALPH et al., 1995; HATFIELD et al., 1999).

Figura 2. 16 - Mecanismos de lignificação envolvendo ferulatos. Fonte: Adaptada de Ralph et al. (1998)

Em gramíneas, os ferulatos se apresentam na região da parede celular como ésteres de polissacarídeos (arabinoxilanas, principalmente) e se ligam à lignina na forma de complexos Lignina-Ferulato-Carboidratos, de onde o ferulato pode ou não ser extraído, dependendo do mecanismo de acoplamento. O mecanismo “passivo” gera o CLFC do tipo A mostrado na Figura 2.16, de onde o ferulato pode perfeitamente ser extraído. Já no mecanismo ativo, o acoplamento radicalar dá origem ao CLFC do tipo B, de onde somente uma pequena fração do ferulato pode ser extraída (BURANOV; MAZZA, 2008).

Figura 2. 17 - Incorporação de diferulatos em ligninas. Fonte: Adaptada de Ralph et al. (1998)

O mecanismo de acoplamento de diferulatos à lignina é semelhante ao dos ferulatos, como mostra a Figura 2.17. Ralph et al. (1998) demonstraram que ferulatos, diferulatos 5-5' ligados e todos os diferulatos isoméricos são subquantificados nos estudos estruturais de ligninas, uma vez que é praticamente impossível de extraí-los.

Figura 2. 18 - Dibenzodioxocinas e arilisocromanas em ligninas

Outras estruturas fenólicas ocorrem em ligninas de gramíneas com menor frequência, como as dibenzodioxocinas e as arilisocromanas (Figura 2.18). As dibenzodioxocinas apresentam uma estrutura trimérica éter-cíclica formada a partir do acoplamento radicalar de um dímero 5-5' com um monômero de lignina (GALKIN et al., 1997; RALPH, 1999). Foi proposto por Peng et al. (1999) que o mecanismo de formação das arilisocromanas se dá diretamente via acoplamento radicalar de monômeros de lignina.

2.4 Separação dos componentes lignocelulósicos

O aproveitamento das frações da biomassa vegetal requer uma ou várias etapas de separação desses componentes. Diversos fatores contribuem para a recalcitrância dos materiais lignocelulósicos à desconstrução química ou biológica (HU; RAGAUSKAS, 2012). Dentre os principais, incluem-se o teor de lignina, hemiceluloses acetiladas, os complexos lignina-carboidrato, a cristalinidade da celulose e seu grau de polimerização, o volume dos poros e a área superficial da celulose (SIERRA et al., 2008). Assim, diversos processos de fracionamento dos materiais lignocelulósicos têm sido desenvolvidos com o objetivo de maximizar o rendimento de cada uma das frações, permitindo, ao máximo, o aproveitamento integral da biomassa.

O objetivo dos processos de fracionamento é promover mudanças na ultraestrutura do material, de modo a liberar as fibras de celulose e aumentar a acessibilidade dos agentes de hidrólise aos componentes estruturais da biomassa (ALVIRA et al., 2010). Assim como o fracionamento, o desempenho da etapa posterior de hidrólise dos carboidratos está condicionado a diversos fatores, como a cristalinidade da celulose, seu grau de polimerização, a umidade e a porosidade do material, o conteúdo de lignina e as perdas inerentes a cada um dos processos (BALAN et al., 2009). O processo ideal é aquele que obtêm polpa com baixo teor de lignina, maior acessibilidade dos agentes químicos de hidrólise aos carboidratos da matriz com as menores perdas possíveis.

A lignina age como uma barreira física contra o acesso enzimático à fração de carboidratos. Embora o mecanismo detalhado que explica a proteção promovida pela lignina contra a hidrólise enzimática ainda não seja completamente compreendido, entende-se que a estrutura e distribuição da lignina são fatores determinantes na hidrólise enzimática dos lignocelulósicos (LAUREANO-PEREZ et al., 2005). Sabe-se que, durante a hidrólise enzimática, as enzimas tendem a se ligar irreversivelmente à lignina por meio de interações hidrofóbicas, o que causa perda de atividade e a exigência de uma maior carga enzimática no processo (YANG; WYMAN, 2006; MOONEY et al., 1998).

As etapas de separação das frações lignocelulósicas são comumente chamadas de pré-tratamentos ou ainda de polpação. Geralmente, chama-se polpação a etapa principal, onde ocorre a maior deslignificação e pré-tratamentos as etapas anteriores à polpação, que são igualmente importantes para o processo geral, porém não levam a uma deslignificação tão efetiva, mas preparam o material para maximizar o desempenho da etapa principal. Esses processos podem ser físicos, químicos, biológicos ou uma combinação desses. Diversos trabalhos têm demonstrado as potenciais aplicações da polpação soda, do pré-tratamento com ácido diluído e do pré-tratamento por explosão a vapor para a obtenção de polpa celulósica (MILÉO, 2011), de açúcares fermentescíveis para produção de etanol de segunda geração (CANILHA et al., 2010; SILVA et al., 2011) e na obtenção de produtos com lignina em suas formulações (OLIVEIRA; GONÇALVES, 2013; JOFFRES et al., 2014).

2.4.1 Polpação Soda

O processo consiste na deslignificação com hidróxido de sódio. A lignina é degradada extensivamente em meio alcalino, enquanto os polissacarídeos são relativamente resistentes. Como consequência, o tratamento de um lignocelulósico em meio básico pode dar origem a um resíduo insolúvel e enriquecido em polissacarídeos, o que tecnicamente é denominado como polpa celulósica ou polpa soda.

As reações da lignina em meio alcalino geralmente têm início na desprotonação de uma hidroxila fenólica, que forma uma estrutura metileno quinona, por meio da clivagem do carbono alfa (FENGEL; WEGENER, 1989), como mostra a Figura 2.19.

Figura 2. 19 - Formação de metileno quinonas em meio alcalino

A metileno quinona pode, ainda, se no meio reacional houver somente hidróxido como base forte, dar origem a estruturas do tipo estilbeno por eliminação do carbono gama, como ilustra a Figura 2.20.

Figura 2. 20 - Formação de estruturas do tipo estilbeno

A clivagem da ligação éter no carbono beta em estruturas não fenólicas da lignina está relacionada com a desprotonação de hidroxilas do carbono alfa (HENRIKSSON, 2009). Em temperaturas elevadas, o íon $(OH)^-$ desprotona a hidroxila do carbono alfa e a reação mostrada na Figura 2.21 se inicia.

Figura 2. 21 - Clivagem das ligações éter no carbono beta em estruturas não fenólicas em meio alcalino

Podem ocorrer ainda, reações de condensação entre os fragmentos de lignina que são liberados em meio alcalino, que serão discutidas no Capítulo 5. Tais reações podem levar a um aumento da massa molar da macromolécula de lignina, podendo ocorrer a reprecipitação da lignina sobre as fibras celulósicas. Ao final do processo, grande parte da lignina está solúvel em meio alcalino. Separa-se a polpa obtida do licor de polpação e, por meio da adição de ácido, reduz-se o pH do licor de polpação para precipitar a lignina extraída da matriz. Essa lignina é

separada por filtração ou centrifugação e levada a pH neutro por sucessivas lavagens com água destilada.

2.4.2 Pré-tratamento com ácido diluído

O tratamento com ácido diluído é um dos pré-tratamentos químicos mais importantes devido ao elevado grau de solubilização e recuperação das hemiceluloses, o que promove uma melhora considerável na digestibilidade enzimática subsequente (LIU; WYMAN, 2004). Trata-se de um pré-tratamento bastante difundido, que tem sido aplicado em madeiras, gramíneas e resíduos agrícolas (ZHENG et al., 2008). Embora o uso de uma grande variedade de ácidos (clorídrico, nítrico, fosfórico, acético) seja reportado na literatura, o ácido sulfúrico é o agente químico mais utilizado nesse processo, por ser barato e apresentar bons resultados (TAHERZADEH; KARIMI, 2007).

As hemiceluloses, principalmente as xilanas, são fortemente hidrolisadas à xilose durante o pré-tratamento ácido, por serem, em sua maior parte, amorfas, facilitando o acesso do ácido às cadeias hemicelulósicas (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Embora este tratamento alcance elevadas conversões de xilana em xilose, condições severas levam à formação de alguns subprodutos indesejados são formados, como furfural, ácido fórmico, ácido acético e ácidos urônicos. Esses produtos não somente reduzem o rendimento de açúcares fermentescíveis como são inibidores da produção de etanol durante o processo fermentativo. A Figura 2.22 mostra resumidamente a formação desses subprodutos inibidores a partir da xilose.

Figura 2. 22 – Formação de furfural e ácido fórmico a partir da xilose. Fonte: Hu e Ragauskas (2012)

A celulose também sofre reações de hidrólise em meio ácido. Este processo consiste em dois estágios: uma hidrólise inicial rápida da porção amorfa de celulose e uma degradação hidrolítica mais lenta da fração cristalina (STEPHENS et al., 2008; EMELEY; HEYWOOD, 1997). Em razão da rápida degradação da fração amorfa, diz-se que a cristalinidade da celulose aumenta durante o pré-tratamento ácido. As reações de hidrólise em meio ácido também contribuem para

a redução do grau de polimerização da celulose, fator determinante na digestibilidade enzimática da polpa.

Assim como ocorre para a xilose, o pré-tratamento ácido promove a formação de subprodutos indesejados a partir da glicose hidrolisada da matriz, como hidroximetilfurfural, ácido levulínico e ácido fórmico, como mostra a Figura 2.23. Foi proposto que esses compostos agem como inibidores de processos fermentativos, prejudicando o crescimento de microrganismos por desacoplamento e mecanismos de acúmulo de ânions intracelulares (RUSSELL, 1992).

Figura 2. 23 - Formação de hidroximetilfurfural e ácido fórmico a partir de glicose. Fonte: Hu e Ragauskas (2012)

As reações da lignina em meio ácido se processam, geralmente, via formação de um íon carbônio, formado a partir da clivagem da ligação α -O-4, mais facilmente hidrolisada em meio ácido, como mostra a rota A da Figura 2.24. Entretanto, o que ocorre predominantemente em meio ácido são reações de condensação, como mostra rota B da Figura 2.24, formando ligações C-C, provocando um acúmulo de material insolúvel em meio ácido. Assim, o tratamento ácido não leva a uma deslignificação considerável.

Figura 2. 24 – Reações de uma estrutura genérica de lignina em meio ácido via formação de íon carbônio

Diversos estudos mostram que, em função da hidrólise dos carboidratos, principalmente das xilanas, o teor de lignina Klason na matriz aumenta com o pré-tratamento (WYMAN et al., 2011; JUNG et al., 2010). Além disso, alguns trabalhos sugerem que o aumento do teor de lignina Klason se dá também em função da repolimerização dos produtos de degradação dos polissacarídeos com a fragmentos de lignina, para formar um material denominado pseudolignina (LI et al., 2005, 2007), como ilustra a Figura 2.25.

Figura 2. 25 – Fragmentação da lignina e repolimerização com furfural ou hidroximetilfurfural durante o pré-tratamento ácido. Fonte: Adaptada de Hu e Ragauskas (2012)

2.4.3 Pré-tratamento por Explosão a Vapor

A explosão a vapor envolve o cozimento do material a altas temperaturas e pressões, seguido de uma rápida descompressão, modificando radicalmente a estrutura da parede celular (RAMOS, 2003). Este processo é considerado uma combinação de um tratamento físico com um tratamento químico, uma vez que diversas reações químicas ocorrem nas condições empregadas no processo, que geralmente ocorre numa faixa de temperatura entre 160 e 260 °C (pressão de 0,69 a 4,83 MPa) com um tempo de residência de alguns segundos até vários minutos antes da descompressão do sistema à pressão atmosférica (HU; RAGAUSKAS, 2012).

O pré-tratamento pode ser realizado com uma diversa gama de biomassas, incluindo madeiras (SADDLER et al., 1993; CHEN et al., 2010) e resíduos agrícolas (OLIVEIRA et al., 2013), gerando um material mais facilmente fracionável e susceptível a ataques químicos e enzimáticos. O processo pode ocorrer com ou sem a presença de um ácido como catalisador (BROWNELL et al., 1986). No caso do processo sem adição de ácido, reações de auto-hidrólise ocorrem no sistema catalisadas pelos ácidos liberados a partir da própria biomassa, principalmente o ácido acético produzido a partir da hidrólise dos grupos acetil de hemiceluloses. Além disso, a própria molécula de água possui um caráter ácido em altas temperaturas, contribuindo para a hidrólise dos carboidratos. A Figura 2.26 ilustra genericamente a hidrólise da celulose e de uma hemicelulose

nessas condições, podendo levar a formação de subprodutos como furfural, hidroximetilfurfural, ácido levulínico, furano, ácido fórmico e ácido acético.

Figura 2. 26 – Hidrólise dos polissacarídeos e formação de subprodutos durante o pré-tratamento por explosão a vapor. Fonte: Adaptada de Ramos (2003)

Chen et al. (2010) estudaram a cinética de remoção de hemicelulose na explosão a vapor e observaram que tanto a taxa de remoção de xilana quanto a de desacetilação aumentam no início do processo e diminuem gradualmente ao longo do pré-tratamento. Eles verificaram que a xilana dissolvida no início do processo possui um elevado grau de polimerização e elevado grau de acetilação, uma vez que os grupos acetil aumentam a solubilidade da xilana, enquanto a xilana liberada no final do processo apresenta um baixo grau de polimerização e acetilação, sendo provavelmente proveniente de complexos lignina-carboidratos.

Assim como ocorre no pré-tratamento ácido, à medida que a severidade do processo de explosão a vapor aumenta, ocorrem mais reações de condensação e repolimerização entre os produtos de degradação com a lignina, levando a um aumento no teor de lignina Klason (WANG et al., 2009a, 2009b). Foi proposto que, durante o pré-tratamento por explosão a vapor, ocorrem dois tipos de reações: inicialmente, uma rápida despolimerização da lignina nativa e das hemiceluloses devido à hidrólise ácida, seguida de reações de repolimerização e condensação, levando à formação de pseudo-ligninas (LI; GELLERSTEDT, 2008).

Figura 2. 27– Padrão de degradação da lignina durante a explosão a vapor. Hidroxilas fenólicas são formadas por hidrólise ácida (A) de subestruturas β-O-4, a partir das quais se formam quinonas (B). Este processo facilita a clivagem homolítica de ligações β-O-4 (C), gerando radicais que se acoplam para produzir uma grande variedade de subprodutos condensados. Fonte: Adaptada de Ramos (2003).

Durante o tratamento por explosão a vapor, a lignina é inicialmente degradada por meio da clivagem homolítica da ligação β-O-4 e outras ligações ácido-lábeis, como mostra a Figura 2.27. A liberação desses produtos de baixa massa molar aumenta com a severidade do processo, tendo

sido evidenciado por cromatografia de permeação em gel que um aumento na severidade do pré-tratamento provoca uma diminuição gradual na massa molar da lignina sem interferências na polidispersidade (EMMEL, 1999). No entanto, sob severidades excessivamente altas, a massa molar aparente da lignina se estabiliza e pode até aumentar, sugerindo que as reações de condensação prevalecem sob estas condições de pré-tratamento.

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

O objetivo primordial deste trabalho é caracterizar ligninas de palha de cana-de-açúcar. Espera-se com este estudo obter informações estruturais sobre a lignina de palha de cana e as modificações sofridas por esta molécula no processo de polpação soda e nos pré-tratamentos com ácido diluído e por explosão a vapor, com o intuito de contribuir para a biorrefinaria de materiais lignocelulósicos.

3.2 Objetivos específicos

- a) Caracterizar a palha de cana livre de extrativos quanto aos teores de celulose, hemiceluloses, lignina e cinzas inorgânicas;
- b) Obter lignina técnica de palha de cana por acidólise branda;
- c) Isolar as ligninas dissolvidas no licor de polpação soda de amostras de palha de cana que passaram ou não por pré-tratamentos;
- d) Realizar a caracterização das ligninas por técnicas químicas e espectroscópicas;
- e) Estudar a termodegradação das ligninas e determinar a temperatura de transição vítrea de cada uma delas;
- f) Determinar o poder calorífico superior das ligninas.

4. Materiais e Métodos

Toda a palha de cana-de-açúcar utilizada neste trabalho foi obtida no Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) em Piracicaba – SP, colhida no mês de Junho de 2012. O material foi lavado exaustivamente com água e a secagem foi realizada ao sol, até que a umidade do material atingisse valores próximos a 10%. Em seguida, o material foi moído em moinho de facas e armazenado.

A remoção dos extrativos foi realizada em extrator tipo Soxhlet utilizando etanol 95% (m/V) como solvente. O processo ocorreu em tempo maior que 8 horas, até que o líquido de extração se tornasse incolor. Em seguida, a palha extraída foi seca a temperatura ambiente para remover os resíduos de etanol e armazenada.

4.1 - Obtenção das ligninas

Os principais métodos para o isolamento da lignina em diferentes biomassas são descritos e discutidos por diversos autores (BURANOV; MAZZA, 2008; LIN; DENCE, 1992; FENGEL; WEGENER, 1989; GLASSER; SARKANEN, 1989). Em alguns procedimentos, a lignina é seletivamente removida dos outros constituintes da planta e posteriormente recuperada. Já em outros, os demais componentes da planta são removidos e a lignina é recuperada como um resíduo insolúvel do processo. Cada uma dessas formas de isolamento promove alterações estruturais específicas tanto na lignina quanto nos carboidratos e as condições usadas nesses processos – pH, temperatura, tempo de residência, granulometria, pressão e outros – determinam a extensão dessas alterações.

Para a análise da lignina em sua forma nativa, o procedimento ideal é aquele em que não há modificações químicas em sua estrutura e o rendimento da extração é suficientemente elevado para que a amostra seja considerada representativa. Entretanto, para a análise da lignina residual de processos, o isolamento deve seguir as etapas pré-estabelecidas do processo. Neste trabalho, optou-se por estudar a lignina da palha de cana das duas maneiras. Para o estudo da lignina nativa, o isolamento foi realizado por acidólise branda, segundo metodologia adaptada de Evtuguin et al. (2001). Para a análise da lignina residual, optou-se pela polpação soda antecedida ou não por pré-tratamento por explosão a vapor ou pré-tratamento com ácido diluído, uma vez que são os principais processos de tratamento de biomassas desenvolvidos nos trabalhos do Grupo de Conversão de Biomassa Vegetal, Modelagem e Simulação da Escola de Engenharia de Lorena – USP.

4.1.1 Isolamento de ligninas por acidólise branda

As ligninas obtidas a partir de soluções ácidas de dioxano:água, chamadas de ligninas dioxano ou ligninas de acidólise, têm sido estudadas para biomassas lenhosas e não lenhosas e são tidas como material bastante representativo da porção nativa de lignina na planta (MONTIES, 1988; LIN; DENCE, 1992; HEITNER et al., 2010; CHONGCHONG et al., 2014). O isolamento das ligninas foi realizado por acidólise branda de acordo com o procedimento descrito por Evtuguin et al. (2001), com algumas modificações. Foram extraídos cerca de 10 g de palha livre de extrativos em um balão com 100 mL de dioxano:água 9:1 contendo $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ de HCl. A extração foi realizada com agitação constante a aproximadamente 90 °C. Após 30 min, a reação foi resfriada e filtrada em filtro de vidro sinterizado nº 3. O material insolúvel foi transferido de volta ao balão e extraído mais duas vezes sob condições idênticas. Uma quarta extração foi realizada sem a adição de HCl. Os quatro licores foram combinados e concentrados sob pressão reduzida. O licor concentrado resultante foi gotejado sobre uma porção de água deionizada gelada com forte agitação magnética a fim de precipitar a lignina. A solução foi mantida por uma noite em geladeira e filtrada no dia seguinte em filtro de vidro sinterizado nº 3. A lignina foi, então, lavada com água deionizada até pH neutro, seca e armazenada para análises.

4.1.2 Polpação soda

A polpação soda foi realizada sob as condições utilizadas em diversos trabalhos do Grupo de Conversão de Biomassa Vegetal, Modelagem e Simulação. Assim, os resultados obtidos nesse trabalho podem alimentar as lacunas verificadas em outros trabalhos do grupo e, consequentemente, auxiliar na proposição de novos estudos. Foram utilizados como material a palha de cana livre de extrativos in natura e também amostras de palha de cana que passaram por pré-tratamentos. O procedimento se deu como segue:

Em um bquer de polipropileno com capacidade de 4 L, foram colocados 100 g (base seca) de material e uma solução de NaOH 1% (m/V). A relação sólido:líquido foi mantida em 1:10. A reação foi realizada em banho térmico, sob agitação mecânica, com rampa de aquecimento e, quando a temperatura atingiu 100 °C, iniciou-se a contagem do tempo. Foram realizadas 5 reações, cada uma com um tempo diferente (15, 30, 45, 60 e 120 min) e os procedimentos foram repetidos até se obter quantidade suficiente de lignina para análise. Ao final das reações, o material foi filtrado sob baixa pressão. Os sólidos obtidos (polpas) foram lavados com água destilada até pH neutro, secos e armazenados para análises futuras. Os licores foram acidificados até pH 2 – 3 para precipitação das ligninas com ácido sulfúrico 95% (m/m). Estas ligninas, por meio de sucessivas lavagens com água deionizada, foram levadas a pH neutro, secas e

armazenadas. Para comparação e análise de alguns resultados, um experimento foi realizado utilizando-se solução de NaOH 5%, com tempo de reação de 60 min e as demais condições idênticas aos procedimentos anteriores.

4.1.3 Pré-tratamento com ácido diluído

O pré-tratamento com ácido diluído foi realizado em um béquer de vidro de 2L, contendo aproximadamente 100 g de palha (base seca) e solução de H_2SO_4 2% (m/V), mantendo-se a relação sólido:líquido em 1:10, com agitação constante sob temperatura de 100 °C. Após o tratamento, o material resultante foi lavado exaustivamente com água destilada, seco e armazenado.

4.1.4 Pré-tratamento por explosão a vapor

A palha de cana foi pré-tratada por explosão a vapor sob temperatura de 200 °C por um tempo de residência de 15 minutos. Em seguida, o material foi lavado exaustivamente com água, filtrado, seco e armazenado para as etapas de análise e deslignificação posteriores.

4.2 – Caracterização Química dos Materiais Lignocelulósicos

A caracterização química das amostras foi realizada empregando-se a metodologia analítica desenvolvida por Rocha et al. (1997) e validada por Gouveia et al. (2009). Amostras de 2,0 g de material lignocelulósico (moídos a 20 mesh) foram pesadas e transferidas para um béquer de 100 mL e foram tratadas com 10,0 mL de H_2SO_4 72% (m/m) sob vigorosa agitação em banho termostatzado a 45 °C por 7 min. Interrompeu-se a reação com a adição de 50 mL de água destilada e transferiu-se a amostra quantitativamente para um frasco erlenmeyer de 500 mL elevando-se o volume de água a 275 mL. O erlenmeyer foi fechado com papel alumínio e autoclavado por 30 min a uma pressão de 1,05 bar, a 121 °C, para que ocorresse a hidrólise completa dos oligômeros restantes.

A mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente, filtrada e transferida para um balão volumétrico de 500,0 mL completado com a água de lavagem do material retido no filtro. O balão volumétrico que contém o hidrolisado foi armazenado para posterior análise de carboidratos e ácidos orgânicos.

4.2.1 Determinação de carboidratos e ácidos orgânicos por CLAE

Os carboidratos e ácidos orgânicos foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), empregando-se uma coluna Aminex HPX-87H (300 x 7,8mm, Bio-Rad Laboratories Ltd) em um cromatógrafo Shimadzu LC-10AD, utilizando como fase móvel H_2SO_4 0,005 mol. L^{-1} com fluxo de 0,6 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, a 45 °C. Foi utilizado um detector de índice de refração Shimadzu RID-6 A, sendo os compostos fenólicos presentes nas amostras removidos por cartuchos de extração sólida Sep-Pak C18 (Waters). Os cromatogramas obtidos foram comparados com os padrões dos açúcares e ácidos orgânicos a serem analisados, sendo a quantificação feita por curvas de calibração de cada composto.

4.2.2 Determinação de lignina insolúvel em meio ácido

O material insolúvel retido no papel de filtro proveniente da etapa de hidrólise ácida para caracterização química foi lavado com aproximadamente 1,5 L de água destilada, para remoção de ácido residual, e seco em estufa à temperatura de 105 °C até massa constante. O teor de lignina insolúvel em meio ácido foi calculado em relação à massa de material lignocelulósico seco descontando-se a massa de cinzas presente na lignina.

4.2.3 Determinação do teor de cinzas da lignina

Os materiais obtidos na etapa anterior foram pré-calcinados à temperatura de 400 °C por aproximadamente 1 hora com os cadinhos tampados e, em seguida, por 2 horas a 800 °C com os cadinhos sem tampa. Os cadinhos foram resfriados em dessecador e a massa de cinzas foi determinada.

4.2.4 Determinação de lignina solúvel

A quantidade de lignina solúvel em meio ácido foi determinada pela medida de absorbância a 280 nm em um espectrofotômetro UV-visível Perkin Elmer modelo Lambda 25. Uma alíquota de 5,0 mL do hidrolisado obtido na etapa de hidrólise ácida foi transferida para um balão volumétrico de 100,0 mL, juntamente com água destilada e 2,0 mL de NaOH 6,5 N (pH final próximo de 12). Esta mistura foi analisada no espectrofotômetro. A equação abaixo foi utilizada para determinar a concentração de lignina solúvel no hidrolisado:

$$C_{LIG} = \frac{A_{280} - \varepsilon_{HMF}C_{HMF} - \varepsilon_{FURF}C_{FURF}}{\varepsilon_{LIG}} \quad (4.1)$$

Onde:

C_{LIG} = Concentração de lignina solúvel no hidrolisado (g.L^{-1});

A_{280} = Absorbância da amostra a 280 nm;

ε_{HMF} = Coeficiente de extinção do hidroximetilfurfural (114 L.g^{-1} – Rocha et al., 1997);

ε_{FURF} = Coeficiente de extinção do furfural ($146,85 \text{ L.g}^{-1}$ – Rocha et al., 1997);

ε_{LIG} = Coeficiente de extinção da lignina ($26,03 \text{ L.g}^{-1}$ – este trabalho).

C_{HMF} = Concentração de hidroximetilfurfural (g.L^{-1});

C_{FURF} = Concentração de Furfural (g.L^{-1});

4.2.5 Determinação de furfural e hidroximetilfurfural

Furfural e hidroximetilfurfural foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em uma coluna LiChrospher 100 RP-18 ($5\mu\text{m}$) de $125 \times 4 \text{ mm}$ (Hewlett- Packard), utilizando-se acetonitrila:água 1:8 (v/v) com 1% de ácido acético como fase móvel, a uma vazão de $0,8 \text{ mL.min}^{-1}$, à temperatura de 25°C . Os compostos foram detectados em 276 nm por um detector UV-visível Shimadzu SPD-10. As concentrações foram determinadas a partir de curvas de calibração dos compostos puros.

4.3 – Caracterização das ligninas

As ligninas precipitadas em cada uma das etapas descritas anteriormente foram analisadas segundo as metodologias a seguir. A escolha desses métodos se deu principalmente em função da baixa solubilidade das amostras nos solventes comuns utilizados em análises de lignina em solução, como dioxano, THF. Tal fato foi evidenciado por outros autores em ligninas de gramíneas e está associado à presença dos complexos lignina-carboidrato e também ao grau de condensação (BURANOV; MAZZA, 2008; GHAFAR; FAN, 2013; HATFIELD; FUKUSHIMA, 2005).

4.3.1 Espectrometria no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

A análise de ligninas por FT-IR tem sido bastante utilizada em estudos estruturais devido, principalmente, à facilidade de execução dos procedimentos e por não necessitar de tratamentos de amostra, podendo realizar análises sem modificações na estrutura. Trata-se de um método não destrutivo que fornece informações estruturais bastante relevantes, com alta sensibilidade e

seletividade, elevada relação sinal/ruído e boa precisão. Além disso, os procedimentos necessitam de amostras com pouca massa e o tempo de análise é curto, em torno de 30 minutos (GHAFAR; FAN, 2013; GILARRANZ et al., 2001). As principais referências utilizadas neste trabalho sobre a atribuição das bandas de FT-IR e considerações estruturais vieram dos trabalhos de Faix (1991), Faix (1992), Faix et al. (1994) e Collier et al. (1997).

Os espectros de FT-IR de ligninas apresentam uma banda larga e forte na região de 3500 – 3100 cm^{-1} , devido à presença de hidroxilas fenólicas e alcoólicas envolvidas em ligações de hidrogênio. A intensidade dessa banda diminui com a substituição das hidroxilas por outros grupos, como acetil, e esse fato é utilizado na verificação da acetilação de ligninas para estudos em solução. Entretanto, a presença de umidade na amostra gera muitas interferências nessa banda e os resultados precisam ser bem analisados para estudos semiquantitativos (FAIX, 1992; COLTHUP et al., 1990).

Além dessa banda, ligninas normalmente apresentam bandas de absorção em torno de 1600, 1500 e 1430 cm^{-1} , relacionadas às vibrações aromáticas. Na região de 1600 – 1750 cm^{-1} , as bandas de absorção se devem principalmente às carbonilas e carboxilas conjugadas e não conjugadas, bem como ligações C=C (GLASSER, 2000). O procedimento de análise se deu como segue:

Amostras de 1 mg de lignina, previamente secas em dessecador, foram misturadas a aproximadamente 250 mg de KBr, transformadas em pastilhas de prensagem e submetidas a análise na região do infravermelho (400 – 4000 cm^{-1}) em um espectrômetro de infravermelho Spectrum GX Perkin Elmer.

4.3.2 Espectrometria no Ultravioleta

A espectrometria na região do UV foi utilizada nesse trabalho para determinação do coeficiente de extinção das diferentes ligninas a 280 nm e para obter informações estruturais. Para isso, amostras de 1 mg de lignina, previamente pesadas e secas foram dissolvidas em 200,0 mL de solução dioxano:água 9:1 contendo 0,8 % m/V de NaOH e posteriormente analisadas em um espectrofotômetro UV-visível Perkin Elmer modelo Lambda 25. As absorbâncias foram registradas entre 220 e 400 nm.

4.3.3 Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (^1H RMN)

A Ressonância Magnética Nuclear de Prótons fornece informações confiáveis e precisas acerca das características estruturais de ligninas. O espectro de ^1H RMN é usado geralmente para

a determinação dos teores dos diferentes grupos funcionais. As principais referências relacionadas a esse tipo de análise usadas nesse trabalho vêm de estudos de Lundquist (1992), Chen e Robert (1988) e Ralph e Landucci (2010).

Uma vez que a análise é realizada em solução, geralmente usando solventes como CDCl_3 ou DMSO, a solubilidade torna-se um fator determinante no processo. Por esse motivo, procede-se a acetilação da lignina previamente à análise espectroscópica, aumentando assim a solubilidade da amostra. O procedimento de acetilação e espectrometria de ^1H RMN se deu como segue:

Uma mistura de 2,0 mL de piridina e 2,0 mL de anidrido acético foi usada para dissolver 100 mg de lignina livre de umidade. A mistura foi borbulhada por 30 min com nitrogênio. A reação de acetilação se processou por 72 horas a temperatura ambiente no escuro. Ao final do processo, foram adicionados 5,0 mL de metanol para neutralizar o excesso de anidrido acético e os solventes foram evaporados sob pressão reduzida. As amostras foram então secas e armazenadas.

As análises foram realizadas em Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), modelo Mercury 300 MHz, Varian e as amostras de lignina acetilada foram dissolvidas em clorofórmio deuterado (CDCl_3).

4.3.4 *Análise Termogravimétrica (TGA)*

Análises térmicas podem fornecer informações sobre as modificações estruturais e a estabilidade física ou química de ligninas em função da temperatura (Ghaffar e Fan, 2013). A análise termogravimétrica (TGA) e sua derivada (DTA) podem ser usadas para monitorar a perda de massa ao longo da termodegradação da lignina, enquanto que a calorimetria diferencial exploratória (DSC) é um método bastante difundido para a determinação da temperatura de transição vítrea (T_g) (Glasser, 2000). As análises térmicas podem ainda ser utilizadas para obter informações sobre a composição da biomassa. Carrier et al. (2011) estudaram formas de utilizar a TGA como um método rápido de caracterização dos teores de α -celulose, hemiceluloses e lignina numa amostra de biomassa. Uma revisão bastante completa sobre a termodegradação de ligninas é apresentada por Brebu e Vasile (2009), onde são discutidos os principais parâmetros relacionados à análise, como a taxa de aquecimento, a cinética e algumas propostas de mecanismos de termodegradação.

A análise térmica foi realizada no Laboratório de Termociências da Universidade Federal Fluminense – Volta Redonda, em equipamento TA Instruments modelo SDT Q600, utilizando uma

taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, sob atmosfera de nitrogênio, na faixa de temperatura de 25 – 800 $^{\circ}\text{C}$.

4.3.5 Análise Elementar

A determinação dos teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre foi realizada em equipamento Perkim Elmer PE 2400 série II CHNS/O no Laboratório Associado de Combustão e Propulsão do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE, de Cachoeira Paulista. O teor de oxigênio foi determinado por diferença.

4.3.6 Determinação de Poder Calorífico Superior

O Poder Calorífico Superior (PCS) foi determinado por meio de uma bomba calorimétrica IKA modelo C200 no Laboratório Associado de Combustão e Propulsão do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE, de Cachoeira Paulista. Esta bomba permite medir o calor liberado pela combustão da biomassa na presença de oxigênio. Nesta técnica, todas as amostras devem passar por uma peneira padrão de malha 60 e serem queimadas em atmosfera com oxigênio puro com pressão específica de 3.000 kPa (HORST, 2013).

4.3.7 Cromatografia de Permeação em Gel

A determinação da massa molar média da lignina obtida por acidólise foi realizada em cromatógrafo Shimadzu, utilizando um sistema com 3 colunas em série Plgel, a uma vazão de THF de $0,7\text{ mL}.\text{min}^{-1}$, sob temperatura de 25 $^{\circ}\text{C}$. Os compostos foram detectados em 280 nm por um detector UV-visível.

5. Resultados e Discussão

5.1 Caracterização da palha

A palha livre de extrativos foi caracterizada e os teores de polissacarídeos, lignina e cinzas encontram-se na tabela 5.1. Para comparação, a tabela exibe ainda os teores desses componentes no bagaço de cana e em outras palhas de gramíneas que também têm sido estudadas nos últimos anos.

Tabela 5. 1 – Composição química da palha de cana e outras palhas de gramíneas

Material	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Cinzas	Total	Referência
Palha de cana	41,67 ± 0,88	29,74 ± 0,69	24,98 ± 0,50	3,19 ± 0,12	99,58	Este Trabalho
Palha de cana	39,9 ± 0,2	30,6 ± 0,3	25,9 ± 0,2	3,7 ± 0,2	100,10	Miléo, 2011*
Bagaço de cana	49,37	25,71	24,12	1,17	100,4	Maziero, 2013*
Palha de milho	36,8	22,2	21,2	6,5	86,70	Öhren et al., 2007
Palha de arroz	44	20,1	19	-	83,10	Deng et al., 2007
Palha de trigo	39	38,7	17	1,8	96,50	Xu et al., 2006
Palha de linhaça	53,8	17,1	23,3	3,6	97,80	Buranov e Mazza, 2008

*Utilizaram a mesma metodologia (Rocha et al., 1997) de caracterização química das frações da biomassa que este trabalho. Valores convertidos e corrigidos pelo teor de extrativos

Dentre os carboidratos analisados, é possível perceber que a palha de cana apresenta um teor de celulose menor que o bagaço. O teor de celulose foi determinado somando-se o teor de glicose, celobiose e hidroximetilfurfural no hidrolisado ácido, multiplicando-se esses teores pelos fatores de conversão (0,9, 1,0 e 1,37, respectivamente). Outras palhas de gramínea, como a de arroz e linhaça apresentam teores de celulose maiores que a palha de cana, no entanto esta comparação é limitada pelas diferentes metodologias utilizadas.

O teor de hemiceluloses foi determinado pela soma dos teores de xilose, arabinose e furfural, multiplicados pelos respectivos fatores de conversão (0,88, 0,88 e 1,29, respectivamente). A xilose foi o carboidrato mais abundante, correspondendo a cerca de 80% da fração hemicelulósica. Carvalho (2012) encontrou valores semelhantes para as hemiceluloses da palha de cana. O elevado teor de xilanas – se comparado com outras espécies de gramíneas e de madeiras do gênero *Eucalyptus* e *Pinus* – apresenta alta atratividade para processos de biorrefinaria focados no aproveitamento de xilanas (CARVALHO, 2012).

O teor de cinzas inorgânicas presente na palha é, pelo menos, duas vezes maior que no bagaço. Marabezi (2009), utilizando outra metodologia, encontrou um teor de cinzas ainda maior,

4,97% para a palha e 0,93% para o bagaço. A presença de altos teores de cinzas promove a corrosão em caldeiras, fato que contribui para a inviabilidade da aplicação direta da palha na conversão para energia. Almeida (2008) estudou a conversão para energia elétrica a partir da produção de carvão utilizando palha de cana como matéria-prima. O carvão de palha apresentou menor poder calorífico em relação ao carvão mineral, fato atribuído, dentre outros, ao teor de inorgânicos presentes na palha. Entretanto, este mesmo autor notou a baixa granulometria associada ao carvão de palha, o que favorece sua utilização para pelotização do minério de ferro e queima em suspensão nos fornos.

Para o teor de lignina, a palha de cana apresentou valores ligeiramente maiores que o bagaço, como mostrado na tabela 5.1. Os valores da tabela 5.1 são referentes aos teores de lignina total. A tabela 5.2 apresenta as frações de lignina solúvel e insolúvel em meio ácido encontradas neste trabalho e em outros trabalhos utilizando os resíduos da cana.

Tabela 5. 2 - Teores de lignina insolúvel e solúvel em relação ao teor de lignina total

Material	Lignina Insolúvel	Lignina Solúvel	Referência
Palha	85,8%	12,6%	Este Trabalho
Palha	92,5%	7,5%	Marabuzzi (2009)
Palha	86,6%	13,4%	Carvalho (2012)
Bagaço	89,1%	10,9%	Canilha et al. (2007)*

**Utilizaram a mesma metodologia de caracterização química das frações da biomassa que este trabalho*

Os valores de lignina solúvel e insolúvel não possuem relação direta com a massa molar da lignina, porém fornecem uma dimensão da modificação sofrida por ela e têm sido utilizados como marcadores dessa modificação.

5.2 Lignina obtida por acidólise branda

A partir dos 10 g iniciais de palha livre de extrativos, foram obtidos aproximadamente $1,84 \pm 0,19$ g de lignina, totalizando um rendimento de extração de aproximadamente 74% da lignina total presente na palha. Essa amostra pode ser considerada como representativa do material. Sucessivas extrações foram realizadas e todas as ligninas obtidas no processo foram combinadas.

5.2.1 Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

O espectro de infravermelho da lignina de acidólise é apresentado na Figura 5.1. A análise deste espectro, apresentada a seguir, é baseada nas atribuições de banda e considerações presentes nos trabalhos de Faix (1992), Faix et al. (1994), Boeriu et al. (2004) e Oliveira et al. (2009).

O espectro apresenta uma banda de absorção na região de 2960 – 2842 cm^{-1} , decorrentes do estiramento C-H em metoxilas aromáticas e em grupos metil e metileno de cadeias laterais. Os picos localizados em 2926 e 2851 correspondem ao estiramento C-H em grupo metileno alifático que pode ter origem a partir de ácidos graxos presentes na amostra.

Figura 5. 1 - Espectro de FTIR da lignina obtida por acidólise branda da palha

É possível verificar uma banda de absorção média em 1705 cm^{-1} correspondente ao estiramento de carbonilas e carboxilas não conjugadas, banda típica de espectros de ligninas. O ombro localizado em 1630 cm^{-1} corresponde ao estiramento de carbonilas e carboxilas conjugadas, além de ligações C=C.

Na região dos aromáticos, é possível verificar bandas a 1603, 1514 e 1424 cm^{-1} , relacionadas às vibrações do anel aromático e a deformação C-H combinada com a vibração do anel aromático a 1463 cm^{-1} . A região espectral abaixo de 1400 cm^{-1} é mais difícil de analisar, uma vez que muitas bandas são complexas, associadas às vibrações de diferentes estruturas.

O espectro também mostra vibrações características de unidades G em 1268 cm^{-1} , referentes ao anel guaiacila e ao estiramento C=O. A banda de absorção em 1329 é característica de anéis siringil. O espectro mostra ainda uma banda a 1166 cm^{-1} , típica de ligninas HGS, associada às ligações C=O em grupos éster conjugados.

A deformação de C-H aromático aparece a 1035 cm^{-1} como uma vibração complexa associada com estiramentos C-O e C-C e ligações C-OH também presentes em polissacarídeos. A presença de carboidratos também interferiria nas absorções de outras bandas na região de $1300 - 1000\text{ cm}^{-1}$. A 834 cm^{-1} , o espectro mostra um pico referente às ligações C-H fora do plano em posições 2 e 6 de anéis do tipo S e em todas as posições nos anéis do tipo H.

5.2.2 Análise Elementar e Poder Calorífico Superior

A tabela 5.3 apresenta os teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio, enxofre e oxigênio (calculado pela diferença) da lignina de acidólise em comparação com as ligninas de outras frações da cana-de-açúcar obtidas em meio ácido. Os valores obtidos nessa análise elementar serão utilizados na determinação quantitativa dos grupos presentes na lignina por espectrometria de ^1H RMN, na determinação da relação H:G:S e nos estudos sobre o poder calorífico. Para efeito de cálculos, os teores de nitrogênio e enxofre serão omitidos, uma vez que estão próximos ao limite de detecção do equipamento, e a lignina será considerada composta apenas de carbono, hidrogênio e oxigênio.

Tabela 5. 3 - Análise elementar de ligninas de cana-de-açúcar

Referência	%C	%H	%O	%N	%S	Material
Este trabalho	60,30	5,75	33,64	0,21	0,10	Palha de cana
Marabezi (2009)	60,29	5,59	32,15	0,4	1,57	Palha de cana
Marabezi (2009)	60,95	5,81	33,83	0,41	-	Bagaço de cana

A análise do teor de carboidratos presentes na lignina de acidólise mostrou que não há quantidade significativa dessas moléculas nessa lignina. Tal fato é explicado pela extração da lignina nesse processo ocorrer por solvólise. As condições usadas na reação de acidólise nesse trabalho foram determinadas por Evtugin et al. (2001), que determinaram a melhor condição de tempo e temperatura para a extração da lignina com dioxano em meio ácido. Nessas condições, a lignina sofre poucas modificações estruturais e o material obtido após a purificação é suficientemente representativo do material na planta, com baixo teor de carboidratos e outros contaminantes. Por esse motivo, a lignina de acidólise obtida nesse trabalho será admitida como “pura”, ou seja, livre de contaminantes. Assim, desconsiderando o teor de nitrogênio e enxofre, a proporção os teores de carbono, hidrogênio e oxigênio ficam 60,46%, 5,76% e 33,76%, respectivamente, resultando na seguinte fórmula mínima para a lignina: $\text{C}_{5,04}\text{H}_{5,76}\text{O}_{2,11}$.

Os resultados referentes ao Poder Calorífico Superior da lignina de acidólise e da palha de cana *in natura* encontram-se na tabela 5.4.

Tabela 5. 4 - Poder Calorífico Superior (*PCS*) da lignina e da palha de cana

Material	PCS_{material} (kJ.g⁻¹)	PCS_{lignina} (kJ.g⁻¹)	PCS_{material}/PCS_{lignina}	Referência
Palha de cana	18,10	25,24	1,39	Este Trabalho
Bagaço de cana	18,06	22,46	1,24	Horst, 2013
Palha de trigo	17,98	20,75	1,15	Horst, 2013
Palha de Milho	17,63	22,13	1,26	Horst, 2013

A palha de cana apresentou poder calorífico de aproximadamente 18,1 kJ.g⁻¹. Esse valor é bem próximo do obtido por Carvalho (2012) (18,17 kJ.g⁻¹) e por Ramos e Paula et al. (2011) (18,07 kJ.g⁻¹) para palha de cana e do obtido por Horst (2013) para o bagaço.

A lignina obtida por acidólise apresentou poder calorífico de 25,24 kJ.g⁻¹. A fórmula de Laut, mostrada na Equação 5.1, pode ser usada para determinação do poder calorífico superior a partir dos teores de carbono, hidrogênio e oxigênio.

$$PCS \text{ (kcal/kg)} = 81,7(\%C) + 342,5(\%H) + 36,6(\%O) \quad (5.1)$$

Utilizando os dados da análise elementar da tabela 5.3, o valor fornecido pela fórmula de Laut para a lignina de acidólise é $PCS = 23,72 \text{ kJ.g}^{-1}$. O resultado calculado é menor que o medido, uma vez que a fórmula foi ajustada para dados relativos à biomassa e não somente à lignina. No entanto, é apenas 9,4% menor, mostrando a acuracidade das medidas e das considerações feitas. Verifica-se na tabela 5.4 que a lignina da palha possui um poder calorífico 39% maior que o da palha, valor maior do que o verificado para outras biomassas, como bagaço, palha de trigo e palha de milho (HORST, 2013). Tal fato reforça o argumento da utilização da lignina residual do processamento da palha de cana na conversão de energia.

5.2.3 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (¹H RMN)

A análise do espectro de ¹H RMN fornece informações bastante importantes e precisas acerca da estrutura da lignina. O espectro, livre dos picos relativos ao solvente, é mostrado na Figura 5.2 e os dados referentes à integração dos sinais dos hidrogênios encontram-se na tabela 5.5. Por meio desses dados, é possível determinar a chamada fórmula C₉ da lignina, correspondendo à estrutura de um grupo fenilpropil. Para isso, o primeiro passo é determinar o teor de metoxilas e subtraí-lo do total de carbono.

Figura 5. 2 - Espectro de ^1H RMN da lignina de acidólise

A integração dos sinais resulta numa área total de 40,11 unidades arbitrárias, que correspondem aos 5,76 hidrogênios na proporção atômica da lignina. A integração da região das metoxilas (δ 3.55 – 3.95) resulta em 0,56 unidades metoxílicas (1,67 hidrogênios divididos por 3 átomos por grupo metoxila). Subtraindo esse valor do total de carbonos, oxigênios e hidrogênios, a nova proporção atômica é $\text{C}_{4,48}\text{H}_{4,09}\text{O}_{1,55}(\text{OCH}_3)_{0,56}$. Dessa forma, a proporção para 9 átomos de carbono (fórmula C9) é $\text{C}_9\text{H}_{8,21}\text{O}_{3,12}(\text{OCH}_3)_{1,11}$.

Tabela 5. 5 - Dados referentes à integração dos sinais de ^1H RMN da lignina obtida por acidólise branda. Regiões de atribuições de acordo com Chen e Robert (1988)

Região (ppm)	Atribuição	Área	Hidrogênios	
			em $\text{C}_{5,04}\text{H}_{5,76}\text{O}_{2,11}$	em $\text{C}_9\text{H}_{8,22}\text{O}_{3,12}(\text{OCH}_3)_{1,11}$
9,00 - 12,00	Ácidos carboxílicos e aldeídos	1,58	0,23	0,46
6,25 - 7,90	Região dos Aromáticos	8,00	1,15	2,31
5,75 - 6,25	Prótons benzílicos não cíclicos	1,01	0,15	0,29
5,20 - 5,75	Prótons benzílicos cíclicos	0,57	0,08	0,16
3,95 - 5,20 e 2,5 - 3,55	Prótons alifáticos	6,59	0,95	1,90
3,55 - 3,95	Metoxilas	11,60	1,67	3,34 (1,11 por C9)
2,20 - 2,50	Prótons acetoxílicos aromáticos	2,00	0,29	0,58
1,60 - 2,20	Prótons acetoxílicos alifáticos	4,14	0,59	1,19
< 1,60	Região dos alifáticos não oxigenados	4,62	0,66	1,33
Soma		40,11	5,76	8,22

O espectro de ^1H RMN fornece ainda informações acerca do grau de condensação da lignina, que pode ser determinado a partir do conteúdo de metoxilas e hidrogênios aromáticos

presentes no espectro (GONÇALVES et al., 2000). Para cada unidade C9, é esperado um número máximo de 4 hidrogênios aromáticos, uma vez que os carbonos nas posições 1 e 4 estão ligados à cadeia propílica e à hidroxila fenólica ou ligação éter. As metoxilas estão ligadas no anel aromático e, portanto, ocupam o lugar de alguns hidrogênios aromáticos. Sendo assim, a lignina de acidólise apresenta um máximo de 2,89 hidrogênios por unidade C9 (4 menos 1,11 metoxilas). A integração da região dos aromáticos mostra que há 2,31 hidrogênios por unidade C9, o que permite calcular, por meio da diferença entre o número máximo de hidrogênios e os hidrogênios da região dos aromáticos, o grau de condensação da lignina, obtendo um valor de aproximadamente 20%. Isso significa que, para cada anel aromático, 20% dos carbonos das posições 2, 3, 5 e 6 não ligados a metoxilas estão ligados a unidades adjacentes. A ocorrência de condensações se dá principalmente devido a ligações 5-5', β-5' e β-1' entre unidades fenilpropanóicas (GONÇALVES et al., 2000), mostradas na Figura 5.3.

Figura 5. 3 – Ligações (a) 5-5', (b) β-5' e (c) β-1'

As hidroxilas fenólicas e alifáticas correspondem a, respectivamente, 0,58 e 1,19 unidades para cada unidade C9. Há ainda 0,46 unidades carbonílica ou carboxílica (muito provavelmente provenientes de ferulatos fazendo ligações com hemiceluloses) por unidade C9 de lignina, mostrando que, para a lignina de acidólise, há mais hidroxilas fenólicas do que carbonilas/carboxilas. Assim, temos que, para lignina de acidólise, a fórmula C9 mais completa é dada por:

5.2.4 Determinação da relação *H*: *G*: *S*

Os teores de carbono presentes nos precursores *H*, *G* e *S* da lignina acrescidos de uma molécula de água são: *H* = 64,3%, *G* = 60,6% e *S*=57,9%. Sendo assim, considerando-se uma lignina sem contaminantes significativos em massa, o teor de carbono da lignina deve, muito

provavelmente, estar entre 57,9 e 64,3%. Assim, o teor de carbono da lignina pode ser expresso como a média ponderada dos teores de carbono de cada unidade (H , G ou S).

$$\%C = \frac{64,3H + 60,6G + 57,9S}{H + G + S} \quad (5.2)$$

Considerando $H = 1$, a média ponderada é dada por:

$$\%C = \frac{64,3 + 60,6G + 57,9S}{1 + G + S} \quad (5.3)$$

Rearranjando esta equação, obtemos:

$$(\%C - 60,6)G + (\%C - 57,9)S = 64,3 - \%C \quad (5.4)$$

Uma vez que se conhece o percentual de carbono da lignina por meio da análise elementar, a equação acima tem duas incógnitas, G e S .

O teor de metoxilas se relaciona com a relação $H:G:S$ de acordo com a equação:

$$\frac{G + 2S}{H + G + S} = \%OCH_3 \quad (5.5)$$

Nesta equação, o numerador representa a contribuição em metoxilas de cada unidade (nenhuma para H , uma metoxila para G e duas para S) e o denominador representa o total de unidades H , G e S . Conhecendo-se o teor de metoxilas e, considerando $H=1$, a equação acima pode ser expressa em função de G e S , como segue:

$$(1 - \%OCH_3)G + (2 - \%OCH_3)S = \%OCH_3 \quad (5.6)$$

A solução do sistema linear determinado pelas Equações 5.4 e 5.6 fornece os valores de G e S na relação 1: $G:S$.

Substituindo o teor de carbono e o de metoxilas determinados para a lignina de acidólise, a relação $H:G:S$ fica 1,00 : 3,22 : 3,68. O parâmetro $H:G:S$ é um importante e está relacionado à reatividade da lignina em processos de polpação. Isso porque, conforme Gomide et al. (2005), as unidades do tipo siringila são as que formam menos estruturas condensadas durante o processo de polpação. Assim, ligninas com maior teor de unidades do tipo S são mais facilmente solubilizadas no licor de cozimento.

5.2.6 Análise Termogravimétrica e Calorimétrica

A curva termogravimétrica da lignina de palha obtida por acidólise TG e sua 1ª derivada DTG são mostradas na Figura 5.4. Pela análise dessa Figura, observa-se uma primeira etapa de degradação, que vai até aproximadamente 154 °C. Essa degradação é atribuída, principalmente, à perda de umidade da amostra. A degradação da lignina ocorre em um amplo intervalo de temperatura, com início aproximadamente a 154 °C e se estendendo até temperaturas bastante elevadas. Isso se dá porque a decomposição ocorre em várias etapas e essas etapas se sobrepõem (MONTEIL-RIVERA et al., 2013). Tal fato também é observado para ligninas de madeira (KIM et al., 2014; JAKAB et al., 1995;) e biomassas não lenhosas (ROSS et al., 2012; YANG et al., 2010). As reações químicas predominantes durante o tratamento térmico dos lignocelulósicos ou de seus componentes isolados são radicalares e, se o tratamento é feito na presença de água, reações de hidrólise também são favorecidas.

Figura 5. 4 - Curva termogravimétrica (TG) da lignina de palha obtida por acidólise e sua derivada (DTG)

Verifica-se ainda que a maior taxa de termodegradação ocorreu a 351 °C (máxima DTG). No intervalo de temperatura de 200 – 300 °C ocorre a decomposição dos alcoóis alifáticos, ácidos e ésteres e, como confirmado por ^1H RMN, o teor de hidroxilas alifáticas é bastante significativo na lignina de acidólise, o que explica o pico de degradação bastante intenso, ligeiramente menor que o pico máximo, a 278 °C. Essa faixa de temperatura também está associada à presença de unidades de baixa massa molar e pode, na planta, apresentar natureza polifenólica (MOUSAVIOUN; DOHERTY, 2010). No intervalo de 200 – 550 °C ocorreu a maior perda de massa e o carvão residual a 800 °C apresentou 42% da massa inicial.

Figura 5. 5 - Curva de DSC da lignina de palha obtida por acidólise

A Figura 5.5 mostra a curva de calorimetria diferencial exploratória (DSC) da lignina de acidólise. O pico exotérmico foi utilizado para a determinação da temperatura de transição vítrea, segundo metodologia descrita por Hatakeyama (1992), obtendo-se $T_g = 418,4$ °C. O pico endotérmico localizado a 75 °C representa a entalpia de desidratação da lignina.

5.2.7 Cinética de termodegradação

Os dados da análise termogravimétrica foram utilizados para estudar a cinética de termodegradação da lignina de acidólise. Uma vez que ocorrem diversas reações durante a pirólise da lignina, o processo foi aproximado segundo o mecanismo genérico:

onde L é a lignina, S é o produto sólido (carvão), V é o material volátil e s e v são as frações dos produtos sólidos e voláteis, respectivamente.

O material sólido, cuja massa relativa, $y(t)$, é medida ao longo da análise, é composto pela fração de material não reagida e o produto sólido, que já sofreu reação. Assim, a fração não reagida, $z(t)$, pode ser definida como

$$z(t) = \frac{y(t) - \omega}{1 - \omega} \quad (5.7)$$

onde ω representa o valor de $y(t)$ quando $z = 0$, ou seja, a massa relativa de material sólido depois que toda reação se processa.

Fundamentalmente, todo modelo cinético obedece à equação de Arrhenius:

$$k(T) = k_0 e^{-Ea/RT} \quad (5.8)$$

Onde k é a constante de velocidade da reação, k_0 é o fator exponencial, Ea é a energia de ativação, R é a constante dos gases e T a temperatura do sistema.

A equação de velocidade de uma reação química é escrita, genericamente, como:

$$r = kz^n \quad (5.9)$$

Onde z representa a fração não reagida e n a ordem de reação. Dessa forma, a equação de velocidade da reação, que relaciona z com o tempo é dada por:

$$-\frac{dz}{dt} = k_0 e^{\frac{-Ea}{RT}} z^n \quad (5.10)$$

Uma vez que, ao longo do tempo, a temperatura da reação aumenta a uma taxa $\beta = \frac{dT}{dt}$ [K.min⁻¹], a Equação 5.10 pode ser reescrita como

$$-\beta \frac{dz}{dT} = k_0 e^{\frac{-Ea}{RT}} z^n \quad (5.11)$$

Rearranjando a Equação 5.6, temos

$$-\int_1^z \frac{dz}{z^n} = \frac{k_0}{\beta} \int_{T_0}^T e^{\frac{-Ea}{RT}} dT \quad (5.12)$$

Chamando o lado esquerdo da Equação 5.12 de $F(z)$, as soluções analíticas para $n = 1$ e $n \neq 1$ são dadas pelas Equações 5.13 e 5.14.

$$n = 1 : F(z) = -\ln(z) \quad (5.13)$$

$$n \neq 1 : F(z) = \frac{1 - z^{1-n}}{1 - n} \quad (5.14)$$

A integral do lado direito da Equação 5.12 não tem solução analítica, mas pode ser aproximada (COATS; REDFERN, 1964; MIURA; MAKI, 1998) pela Equação 5.15.

$$\int_{T_0}^T e^{\frac{-E_a}{RT}} dT = \frac{RT^2}{E_a} e^{\frac{-E_a}{RT}} \quad (5.15)$$

Dessa forma, o modelo fica:

$$\frac{\beta}{T^2} = \frac{k_0 R}{E_a F(z)} e^{\frac{-E_a}{RT}} \quad (5.16)$$

A Equação 5.16 pode ser linearizada se reescrita na forma logarítmica, como mostra a Equação 5.17.

$$\ln \frac{\beta F(z)}{T^2} = \ln \frac{k_0 R}{E_a} - \frac{E_a}{RT} \quad (5.17)$$

De acordo com a Equação 5.17, o gráfico de $\ln \frac{\beta F(z)}{T^2}$ por $1/T$ é uma reta cuja inclinação é $-E_a/R$ e o coeficiente linear é $\ln \frac{k_0 R}{E_a}$. Os parâmetros foram ajustados segundo o método dos Mínimos Quadrados, implementado em linguagem Scilab. A ordem de reação n foi determinada como aquela que gera o melhor valor de correlação R^2 , ou seja, a ordem em que o modelo melhor se ajusta aos dados. A ordem de reação que melhor se ajustou aos dados foi $n = 1,1$ ($R^2 = 0,9594$). Esse valor está de acordo com os reportados para termodegradação de biomassa lignificada e comprova que a cinética do processo pode ser aproximada com um modelo de pseudoprimeira ordem (GUO; LUA, 2001; SAIT et al., 2012). A Figura 5.6 mostra o gráfico obtido pela Equação 5.17 linearizada com os dados da análise termogravimétrica da lignina de acidólise, para $n=1,1$.

Figura 5. 6 - Representação da linearização do modelo cinético

Os parâmetros fornecidos pela regressão linear permitem determinar os valores de E_a e k_0 . Para a lignina de acidólise, $E_a = 13,80 \text{ kJ.mol}^{-1}$ e $k_0 = 0,4799 \text{ min}^{-1}$. Os parâmetros cinéticos da pirólise da lignina, aliados aos mecanismos de transferência de massa fornecem informações

importantes para o desenvolvimento e otimização de sistemas termoquímicos, que não foram objetos de estudo deste trabalho, mas que podem alimentar plataformas, como a da Biorrefinaria Virtual de Cana (CTBE, 2013).

5.2.8 Espectrometria de UV-visível

O espectro da lignina de acidólise na região do UV-visível, mostrado na Figura 5.7, foi construído a partir dos valores do coeficiente de extinção (em $L \cdot g^{-1}$), calculados a partir da leitura da absorbância de sucessivas diluições da lignina. Trata-se de um espectro típico de ligninas, com elevadas absorvidades para comprimentos de onda menores que 240 nm, um pico de máxima absorção em torno de 280 nm e uma região de absorção no intervalo de 310 – 360 nm.

O pico de máxima absorção geralmente encontrado a 280 nm, correspondente à transição eletrônica $\pi \rightarrow \pi^*$ no anel aromático, típico de ligninas, ocorre a 288 nm. Esse deslocamento batocrômico observado é um indicativo do elevado teor de unidades G na lignina, uma vez que ligninas do tipo S apresentam máximos de absorção na região de 268 – 276 nm, enquanto ligninas do tipo G apresentam a máxima absorção dessa banda para valores maiores que 280 (XU et al., 2008; MOROHOSHI, 1991). Esse fato está de acordo com a relação *H:G:S* determinada por 1H RMN e com outros trabalhos da literatura (CARVALHO, 2012). O solvente utilizado também pode provocar pequenos desvios nos comprimentos de onda de máxima absorção (LIN, 1992).

A absorção que ocorre a 310 – 320 nm é indicativa da presença de unidades do tipo H (SUN et al., 2003) e, em 320nm, ocorre a absorção das unidades $-CH=CHCOOH$ (GOLDSCHMIDT, 1971). Pode ocorrer, em ligninas com um maior teor de unidades H, um pico de absorção em torno de 310 – 320 nm (OLIVEIRA, 2009).

O coeficiente de extinção a 280 nm é um parâmetro geralmente determinações quantitativas de lignina em solução. A tabela 5.6 mostra alguns valores desses coeficientes para algumas ligninas em dioxano disponíveis na literatura.

Tabela 5. 6 - Coeficientes de extinção ϵ ($L \cdot g^{-1}$) a 280 nm

Lignina	Obtenção	ϵ_{280} ($L \cdot g^{-1}$)	Referência
Palha de cana	Acidólise	26,03	Este trabalho
Palha de Trigo	Cozimento Alcalino	21	Lawther et al., 1996
Bagaço de cana	Klason	19,6	Rocha et al., 1997
Bagaço de cana	Explosão a vapor	16,5	Nascimento, 2007
Juta (<i>Corchorus capsularis</i>)	Cozimento Alcalino	26	Islam e Sarkanen, 1993
Talo de bananeira	Acidólise	18	Oliveira et al., 2009

Figura 5. 7 - Espectro de absorção de luz UV-visível para a lignina obtida por acidólise

É possível verificar na tabela 5.6 que há uma diferença de cerca de 30% nos coeficientes de extinção entre as ligninas de palha e bagaço de cana. Alguns trabalhos utilizam indistintamente o valor 19,6 para ambas ligninas, o que resulta em resultados equivocados no balanço de massa, uma vez que parte da quantificação da lignina é feita pelo método espectroscópico. Essa diferença pode estar associada ao grau de condensação e substituição dessas ligninas. De acordo com Nascimento (2007), anéis substituídos devem aumentar a absorvidade em 280 nm, assim como reações que levam ao acúmulo de α -carbonilas e/ou α - β insaturações devem aumentar a absorvidade em 310 nm.

5.2.9 Distribuição de Massa Molar

A massa molar da lignina obtida por acidólise foi avaliada por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC). A amostra de lignina acetilada não foi completamente solubilizada em THF e a fração solúvel representa aproximadamente 67% do total de amostra. Assim, o cromatograma é mostrado na Figura 5.8 é referente à fração solúvel em THF.

Figura 5. 8 - Distribuição de massa molar da fração de lignina de palha de cana solúvel em THF

A partir dos dados desse cromatograma e da calibração realizada com padrões de poliestireno, foi possível determinar a Massa Molar Média em Número (M_n), a Massa Molar Média em Massa (M_w) e a Polidispersividade (M_w/M_n), resultados que se encontram na tabela 5.7.

Tabela 5. 7 - Parâmetros relacionados à massa molar da lignina de acidólise

Material	M_w (Da)	M_n (Da)	M_w/M_n
Lignina Acidólise	1908	605	3,15

Uma vez que se conhece a composição elementar da lignina de acidólise ($C_9H_{8,22}O_{3,12}(OCH_3)_{1,11}$, de massa molar 200,71 g por unidade), conclui-se que, em média, cada cadeia de lignina possui em torno de 9,5 unidades C9.

5.2.10 Estimativa da estrutura da lignina

A partir dos dados fornecidos pela análise elementar, por 1H RMN, pela determinação da massa molar média e pelas características observadas por FT-IR e na espectrometria de UV-visível, foi possível estimar uma estrutura média para a lignina de acidólise, mostrada na Figura 5.9.

Uma vez que foi determinado que a estrutura média da lignina possui cerca de 9,5 unidades C9, optou-se por esboçar a estrutura com 10 dessas unidades. Assim, seguindo a relação H:G:S determinada, a distribuição H:G:S mais próxima com 10 unidades C9 é 2:3:5. Essa configuração apresenta um total de 13 metoxilas. Para a determinação das ligações de condensação, levou-se em consideração que 10 anéis aromáticos substituídos nas posições 1 e 4 apresentam 40 hidrogênios aromáticos. Uma vez que há 13 metoxilas, o número desses hidrogênios cai para 27. A análise de ^1H RMN mostrou que há 20% de condensação, ou seja, há a deficiência de 6 hidrogênios aromáticos, totalizando 3 ligações C-C entre anéis aromáticos (condensação), mostradas em rosa na Figura 5.9 entre as unidades 4 - 5, 6 - 7 e 9 - 10.

A ligação da lignina com os carboidratos foi indicada nas estruturas 1 e 6 como ligações com ácido ferúlico, uma vez que o espectro de ^1H RMN sugere a existência dessas estruturas. Por fim, procedeu-se a distribuição de hidrogênios alifáticos, oxigênios, hidroxilas fenólicas e alifáticas de modo a contemplar as informações de massa molar e as obtidas por ^1H RMN e análise elementar. Vale ressaltar que esta não representa a estrutura real da lignina da palha, uma vez que, além do material ser polidisperso e, portanto, heterogêneo, as informações das análises

desse trabalho não sustentam a elaboração de uma estrutura. Entretanto, a estrutura exibida na Figura 5.9 pode ser considerada uma estrutura genérica que representa as características estruturais médias da lignina de palha com fórmula $C_{101}H_{113}O_{41}$, massa molar de 1981 Da e 61,18% de carbono, 5,74% de hidrogênio e 33,18% de oxigênio. Poucos estudos têm sido reportados com uma caracterização detalhada de ligninas de biomassas provenientes da indústria sucroalcooleira, principalmente apresentando propostas de estruturas, sendo a tese de Nascimento (2007) uma referência importante na determinação de características estruturais da lignina de bagaço de cana durante o seu isolamento, mas que não apresentou proposta de estrutura.

5.3 Polpação Soda

A polpação soda da palha de cana livre de extrativos, realizada a 100 °C com NaOH 1% (m/V), foi acompanhada ao longo de 120 minutos. O material insolúvel em meio alcalino, denominado polpa, foi lavado e caracterizado quanto ao teor de carboidratos, lignina e cinzas. O resultado dessa caracterização encontra-se na tabela 5.8

Tabela 5. 8 - Composição das polpas soda de palha de cana

Material	Palha	Polpa 15 min	Polpa 30 min	Polpa 45 min	Polpa 60 min	Polpa 120 min
Celulose (%)	41,67±0,88	54,41±0,93	57,73±0,82	59,18±1,02	61,09±0,76	61,14±0,92
Hemicelulose (%)	29,74±0,69	24,19±0,74	22,57±0,96	21,71±0,83	21,15±0,70	20,33±0,87
Lignina (%)	24,98±0,52	20±0,71	17,1±0,62	14,9±0,54	11,91±0,28	12,49±0,69
Insolúvel	21,82±0,39	18,74±0,36	15,14±0,41	12,96±0,18	10,1±0,36	11,81±0,41
Solúvel	3,16±0,12	2,26±0,61	1,96±0,23	1,94±0,15	1,80±0,23	0,68±0,26
Cinzas (%)	3,19±0,12	1,81±0,19	1,74±0,23	1,82±0,17	1,69±0,26	1,75±0,21
Total (%)	99.58	100.41	99.14	97.61	95.84	95.71

Analisando-se a tabela 5.8, é possível perceber que, ao longo do tempo, ocorre a dissolução da lignina, enquanto os polissacarídeos são preservados na matriz. Em 60 minutos de reação, a polpa obtida contém 82,24% de polissacarídeos e 11,91% de lignina. Após esse tempo, verifica-se em 120 minutos que o teor de lignina na polpa não se altera significativamente e é ligeiramente maior que o anterior. Esse fato sugere que a condensação dos fragmentos liberados em meio alcalino pode causar reprecipitação da lignina nas fibras e pode explicar também a redução no teor de lignina solúvel de 60 a 120 minutos. O elevado tempo de polpação promove alterações estruturais irreversíveis à macromolécula de lignina.

A tabela 5.9 mostra os valores da relação entre lignina insolúvel e solúvel, *Li/Ls*. Esses valores fornecem informações acerca das modificações que ocorrem na estrutura da lignina ao longo do tratamento alcalino.

Tabela 5. 9 - Valores da relação entre lignina insolúvel e lignina solúvel nas polpas soda.

Material	Palha	15 min	30 min	45 min	60 min	120 min
<i>Li/Ls</i>	6,91	8,29	7,72	6,68	5,61	17,35

Considera-se que a fração solúvel é mais facilmente removida da matriz do que a fração insolúvel. Isso porque, embora não haja correlação direta entre a relação *Li/Ls* com a distribuição de massa molar ou outras propriedades físico-químicas, muito provavelmente a fração insolúvel é mais reticulada que a fração solúvel (ROCHA et al., 2012).

Figura 5. 10 - Condensação primária de fragmentos de lignina em meio alcalino. Fonte: Modificada de Fengel e Wegener (1989).

As principais reações de condensação em meio básico são apresentadas nas Figuras 5.9 a 5.11. A Figura 5.10 mostra a condensação de um fenolato a uma estrutura do tipo metileno quinona, formando uma ligação do tipo α -5 pela liberação irreversível de um próton (condensação primária). Na Figura 5.11, verifica-se o mecanismo de condensação secundária entre uma estrutura do tipo metileno quinona e um fragmento cuja cadeia lateral foi liberada em meio alcalino. A Figura 5.12 mostra a condensação de estruturas fenólicas com formaldeído gerando estruturas do tipo diarilmetano.

Figura 5. 11 - Condensação secundária de fragmentos de lignina em meio alcalino. Fonte: Modificada de Fengel e Wegener (1989).

Figura 5. 12 - Condensação de fragmentos de lignina em meio alcalino com formaldeído. Fonte: Modificada de Fengel e Wegener (1989).

5.3.1 Cinética de dissolução da lignina em meio alcalino

A deslignificação em meio alcalino foi estudada considerando que o processo de dissolução da lignina ocorre segundo a reação genérica abaixo:

Onde A é a lignina presente na biomassa e B a lignina solubilizada no licor alcalino ao longo da reação. Assim, a cinética desta reação pode ser descrita pela equação:

$$-\frac{dC_A}{dt} = kC_A^n \quad (5.18)$$

Onde k representa a constante de velocidade e n a ordem de reação.

Uma vez que, no processo de deslignificação soda ocorrem diversas reações, o conjunto de todas essas reações, que resulta na solubilização da lignina no licor alcalino, será considerado um processo com cinética de pseudoprimeira ordem.

$$-\frac{dC_A}{dt} = kC_A \quad (5.19)$$

Integrando a Equação 5.19, obtêm-se o seguinte modelo exponencial:

$$C_A = C_{A0}e^{-kt} \quad (5.20)$$

Onde C_{A0} representa a concentração de lignina no tempo zero. Ajustando-se os dados da tabela 5.7, por meio do método dos Mínimos Quadrados, ao modelo da Equação 5.20, obtêm-se os parâmetros reproduzidos na Figura 5.13.

Figura 5. 13 - Representação do ajuste dos dados da deslignificação ao modelo cinético

Uma vez que o objetivo do processo é obter uma polpa com o menor teor de lignina possível, a Equação 5.20 foi ajustada nos tempos de 0 a 60 min. O valor da constante de velocidade calculado foi $k = 0,0119 \text{ min}^{-1}$.

Tabela 5. 10 - Análise de variância

Fonte	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F
Modelo	295.18	1	295.18	748.13
Residual	5.13	13	0.40	
Falta de Ajuste	2.10	3	0.70	
Erro Puro	3.03	10	0.30	
Total	303.74	14		

A modelagem foi validada por Análise de Variância segundo metodologia descrita por Pimentel e Barros Neto (1995) e os resultados encontram-se na tabela 5.10. O coeficiente de correlação é dado pela razão entre a Soma Quadrática explicada pelo modelo e a Soma Quadrática Total. Portanto, $R^2 = 0,9718$. A razão $MQ_{modelo}/MQ_{residual}$ é chamada de estatística F ou fator estatístico. Uma vez que o F calculado seja maior que o valor tabelado para os mesmos graus de liberdade, a qualidade do ajuste é estatisticamente satisfatória (SILVEY, 1980). O valor de F tabelado para 99% de confiança, 1 grau de liberdade no numerador e 13 no denominador é 9,07 (NAVIDI, 2012). Uma vez que o F calculado é 748, a aproximação do processo à cinética de pseudoprimeira ordem é válida e capaz de descrever os dados.

5.4 Caracterização das Ligninas Soda

5.4.1 Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

As ligninas precipitadas do licor com H_2SO_4 do licor alcalino em cada um dos experimentos variando o tempo de reação foram lavadas até pH 5,0, secas e analisadas por Espectrometria na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) na região de 4000 a 400 cm^{-1} , como mostra a Figura 5.14.

A análise dos espectros mostra uma banda em torno de 1700 cm^{-1} , correspondente ao estiramento de carbonilas e carboxilas não conjugadas, presente em todos os espectros. O mesmo ocorre para a absorção referente ao estiramento das carbonilas não conjugadas e ligações $C=C$, localizada em torno de 1630 cm^{-1} . Tais bandas são típicas de ligninas e são mais pronunciadas em ligninas de gramíneas, uma vez que essas apresentam um número maior de carbonilas em relação às ligninas de madeiras, devido, principalmente, à ocorrência dos complexos lignina-carboidrato (BURANOV; MAZZA, 2008).

A região compreendida em números de onda superiores a 3000 cm^{-1} , referente ao estiramento de hidroxilas, aparece nos espectros como uma banda larga e muito intensa, difícil de ser analisada, uma vez que a absorção nessa região é bastante influenciada pela presença de umidade.

Figura 5. 14 - Espectros de FT-IR das ligninas Soda

É importante ressaltar que essas ligninas precipitadas do licor em diferentes tempos de cozimento representam materiais que sofreram diferentes modificações, uma vez que a lignina sofre alterações químicas ao ser extraída da matriz e continua a ser modificada enquanto está solúvel no licor alcalino. Essas ligninas são, portanto, bastantes heterogêneas em composição.

Para melhor analisar os espectros de FT-IR, a região compreendida entre 1800 e 800 cm^{-1} , região de impressão digital, foi ampliada e é mostrada nas Figuras 5.15 e 5.16. A Figura 5.15 mostra o espectro das ligninas obtidas de 15 a 60 min, que correspondem ao tempo em que ocorreu a remoção de lignina da matriz lignocelulósica. O espectro foi normalizado pelo pico a 1510 cm^{-1} para uma avaliação semiquantitativa. As atribuições de cada região do espectro encontram-se na tabela 5.11. A região de 1750 a 1620 cm^{-1} compreende as absorções referentes ao estiramento de carbonilas e carboxilas. Nessa região, absorção em números de onda mais elevados representam as carbonilas e carboxilas não conjugadas e, absorções em números de onda menores correspondem às carbonilas e carboxilas conjugadas. Isso porque a conjugação com uma ligação C=C aumenta o deslocamento dos elétrons π de ambos os grupos insaturados. No grupo C=O, a deslocalização dos elétrons π reduz o caráter de ligação dupla e leva à absorção em menores números de onda (SILVERSTEIN et al., 2006).

Figura 5. 15 - Espectro de FT-IR das ligninas Soda de 15 a 60 min

A presença de carboidratos na amostra é verificada por meio da análise da absorbância da banda a 900 cm^{-1} , diretamente associada à ligação $\beta(1,4)$ em carboidratos. É possível verificar que, em 60 min, a banda praticamente desaparece, indicando a diminuição no teor de carboidratos na lignina. A tabela 5.11 exibe uma síntese das atribuições de bandas para as ligninas soda.

Tabela 5. 11 - Atribuição das bandas de FT-IR para as ligninas Soda

Número de onda (cm^{-1})	Atribuição
3500-3300	Estiramento O-H
3000-2800	Estiramento C-H em grupos metil e metileno
1710	Estiramento de carbonilas e carboxilas não conjugadas
1630	Estiramento de carbonilas e carboxilas conjugadas
1604	Vibrações do anel aromático
1510	Vibrações do anel aromático
1424	Vibrações do anel aromático
1330	Anel do tipo S e unidades G condensadas (C5 substituídas)
1265	Vibrações características de unidades G
1165	Vibrações características de ligninas HGS
900	ligação beta 1-4 em carboidratos
838	C-H fora do plano nas posições 2, 5 e 6 (G), 2 e 6 (S) e 2, 3, 5 e S (H)

A Figura 5.16 mostra uma comparação entre os espectros das ligninas de 60 e 120 min. Uma vez que não houve remoção considerável de lignina na matriz entre esses tempos, é razoável admitir que a lignina de 120 min é resultado das modificações químicas que ocorreram na de 60 min no licor alcalino.

A principal diferença entre os espectros da Figura 5.16 ocorre na região entre 1580 e 1720 cm^{-1} , região das carbonilas e carboxilas. Percebe-se que entre 60 e 120 min ocorre a redução dessas estruturas.

Figura 5. 16 - Comparação dos espectros de FT-IR das ligninas Soda de 60 e 120 min

Segundo Faix et al. (1994), a análise do espectro de FTIR permite obter informações acerca do grau de condensação da lignina. A razão entre a soma da absorbância de sete mínimos (1550, 1484, 1440, 1395, 1300, 1177 e 1070 cm^{-1}) e seis picos máximos (1510, 1463, 1425, 1330, 1224 e 1140 ou 1125 cm^{-1}) fornece um número proporcional ao grau de condensação. Procedendo dessa maneira, os valores encontrados para as ligninas de 15, 45, 60 e 120 min são, respectivamente, 0,16, 0,36, 0,84 e 0,89, mostrando que o grau de condensação das ligninas aumenta ao longo do tempo. Isso pode ser evidenciado pelo aumento na absorção da banda a 1330 cm^{-1} , associada aos anéis do tipo S e aos anéis do tipo G condensados substituídos na posição 5 e pela diminuição da absorção da banda a 838 cm^{-1} , que representa as vibrações de deformação angular fora do plano de C-H nas posições não substituídas do anel aromático (FAIX, 1992; SILVERSTEIN et al., 2006).

O espectro de FTIR da lignina obtida com soda 5% é exibido na Figura 5.17 para comparação com o da lignina de 60 min. Na região que compreende de 1800 a 1200 cm^{-1} , os espectros das duas ligninas são bastante parecidos. No entanto, para a região das ligações C-O (entre 1200 e 1000 cm^{-1}), percebe-se que a lignina obtida com soda 5% apresenta absorbâncias muito maiores. Tal fato sugere que a condição mais alcalina promove uma hidrólise mais severa na lignina, rompendo ligações e adicionando hidroxilas na macromolécula. É razoável admitir que o rompimento dessas ligações faça com que a lignina obtida com soda 5% apresente massa molar menor que a obtida com soda 1%. Essa hipótese é suportada pelo fato de que, na reação com

soda a 5% por 120 minutos, uma condição ainda mais severa, a lignina não precipitou em meio ácido.

Figura 5. 17 - Comparação dos espectros de FT-IR das ligninas Soda 1% e 5%

5.4.2 Análise Elementar e Poder Calorífico Superior

As ligninas precipitadas do licor alcalino foram caracterizadas quanto ao teor de carbono, hidrogênio, nitrogênio, enxofre e oxigênio. Esses teores encontram-se na tabela 5.12. Quanto ao Poder Calorífico Superior, a amostra de lignina de 60 min apresentou $PCS = 25,14 \text{ kJ.g}^{-1}$.

Tabela 5. 12 – Composição elementar das ligninas Soda

Material	%C	%H	%O	%N	%S
Lignina 15 min	$52,17 \pm 0,10$	$5,2 \pm 0,03$	40,01	$1,78 \pm 0,42$	$0,84 \pm 0,13$
Lignina 45 min	$53,03 \pm 0,10$	$5,53 \pm 0,03$	38,93	$1,80 \pm 0,51$	$0,71 \pm 0,12$
Lignina 60 min	$55,62 \pm 0,10$	$5,77 \pm 0,03$	35,02	$2,42 \pm 0,56$	$0,77 \pm 0,12$
Lignina 120 min	$54,96 \pm 0,10$	$5,62 \pm 0,05$	36,00	$2,45 \pm 0,46$	$0,97 \pm 0,16$

Os baixos teores de carbono mostrados na tabela 5.12 são explicados pela presença de carboidratos e os teores de nitrogênio sugerem a presença proteínas nas amostras de lignina. Uma vez que não houve processo enzimático, é razoável admitir que a polpação soda é menos seletiva, extraindo também esses compostos. Todavia, essas proteínas não interferem na avaliação global que está sendo realizada. Para melhor analisar esses dados, assim como foi feito para lignina de acidólise, os teores de nitrogênio e enxofre serão desconsiderados. Assim, os teores de carbono, hidrogênio e oxigênio são distribuídos conforme mostra a tabela 5.13

Tabela 5. 13 - Teores de carbono, hidrogênio e oxigênio das ligninas Soda

Material	%C	%H	%O
Lignina 15 min	53,57	5,34	41,09
Lignina 45 min	54,40	5,67	39,93
Lignina 60 min	57,69	5,98	36,33
Lignina 120 min	56,91	5,82	37,27

Percebe-se, pela análise da tabela 5.13, que o teor de carbono aumenta até 60 min. Tal fato leva a crer que o teor de carboidratos é maior na lignina precipitada no início da reação. Isso porque os carboidratos ligados à lignina são removidos da matriz e hidrolisados no licor, explicando o aumento no teor de carbono ao longo do tempo. Essa hipótese é suportada pelo fato da temperatura da reação não favorecer as reações de *peeling* na matriz. O ataque alcalino aos carboidratos é mais efetivo naqueles ligados à lignina do que nos presentes na matriz, protegidos pela estrutura cristalina da celulose.

Tabela 5. 14 - Teores de lignina Klason nas ligninas Soda

Material	Lignina Klason (%)	Carboidratos (%)
15 min	60,40	39,6
45 min	67,90	32,1
60 min	82,6	17,4
120 min	79,1	20,9

O teor de carboidratos nas ligninas precipitadas pode ser estimado a partir do teor de lignina Klason, considerando-se que o material precipitado é composto somente de lignina (Klason) e carboidratos. A tabela 5.14 apresenta os teores de lignina Klason e carboidratos nas ligninas precipitadas nos tempos de 15, 45, 60 e 120 min.

Conhecendo-se o conteúdo de carboidratos e lignina do material precipitado, é possível determinar os teores de carbono, hidrogênio e oxigênio da fração do material correspondente à lignina. Para isso, considera-se o carboidrato presente no material como $C_5H_8O_4$ (xilana), obtendo-se os dados da tabela 5.15.

Tabela 5. 15 - Composição elementar das ligninas Soda descontados os teores de carboidratos

Material	%C	%H	%O
Lignina 15 min	58,89	4,87	36,24
Lignina 45 min	58,63	5,49	35,89
Lignina 60 min	60,27	5,96	33,77
Lignina 120 min	59,94	5,76	34,31

Os valores da tabela 5.15 serão usados nas estimativas dos grupos presentes nas ligninas por 1H RMN.

5.4.2 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons

Os espectros de RMN das ligninas precipitadas do licor alcalino são mostrados na Figura 5.18. Diferente do que aconteceu com a lignina de acidólise, as obtidas por polpação soda não foram totalmente solubilizadas em CDCl_3 . As solubilidades aproximadas para as ligninas de 15, 45 e 60 min foram, respectivamente, 39,4%, 47,5% e 63,8%, números proporcionais aos teores de lignina Klason presentes nessas amostras. Assim, admite-se que a porção solúvel apresenta menor teor de carboidratos que a porção insolúvel, sendo assim mais representativa da porção de lignina de cada amostra.

Figura 5. 18 - Espectros de ^1H RMN das ligninas Soda acetiladas

As fórmulas C9 mínimas para cada lignina foram calculadas com os dados da tabela 5.15 e a atribuição dos sinais foi feita como demonstrado no item 5.2.3 e os resultados encontram-se na tabela 5.16.

Tabela 5. 16 - Dados referentes à integração dos sinais de ^1H RMN das ligninas Soda

Região (ppm)	Atribuição	15 min ¹	45 min ²	60 min ³
9,00 - 12,00	Ácidos carboxílicos e aldeídos	0,39	0,54	0,79
6,25 - 7,90	Região dos Aromáticos	2,43	1,86	1,47
5,75 - 6,25	Prótons benzílicos não cíclicos	0,58	1,09	1,16
5,20 - 5,75	Prótons benzílicos cíclicos	0,3	0,68	0,81
3,95-5,2 e 2,5 - 3,55	Prótons alifáticos	1,34	2,08	1,78
3,55 - 3,95	Metoxilas	3,71	3,44	4,08
2,20 - 2,50	Prótons acetoxílicos aromáticos	0,76	0,74	0,64
1,60 - 2,20	Prótons acetoxílicos alifáticos	0,2	0,49	0,95
< 1,60	Região dos alifáticos não oxigenados	0,43	0,49	0,62

Fórmulas C9: ¹ $\text{C}_9\text{H}_{6,43}\text{O}_{3,49}(\text{OCH}_3)_{1,24}$; ² $\text{C}_9\text{H}_{7,96}\text{O}_{3,51}(\text{OCH}_3)_{1,15}$; ³ $\text{C}_9\text{H}_{8,22}\text{O}_{3,32}(\text{OCH}_3)_{1,36}$

Os dados da tabela 5.16 foram usados para determinar as fórmulas C9 completas para cada lignina, mostradas na tabela 5.17

Tabela 5. 17 - Fórmulas C9 para as ligninas Soda

Lignina	Fórmula
15 min	$\text{C}_9\text{H}_{2,42}^{\text{ar}}\text{H}_{3,04}^{\text{al}}\text{O}_{2,53}(\text{OH})_{0,76}^{\text{ph}}(\text{OH})_{0,20}^{\text{al}}(\text{OCH}_3)_{1,24}$
45 min	$\text{C}_9\text{H}_{1,86}^{\text{ar}}\text{H}_{4,87}^{\text{al}}\text{O}_{2,28}(\text{OH})_{0,73}^{\text{ph}}(\text{OH})_{0,49}^{\text{al}}(\text{OCH}_3)_{1,15}$
60 min	$\text{C}_9\text{H}_{1,47}^{\text{ar}}\text{H}_{5,15}^{\text{al}}\text{O}_{1,73}(\text{OH})_{0,64}^{\text{ph}}(\text{OH})_{0,95}^{\text{al}}(\text{OCH}_3)_{1,36}$

Os dados da tabela 5.16 foram usados, ainda, para determinar o grau de condensação da porção solúvel de cada amostra, obtendo 12%, 35% e 44% para as ligninas de 15, 45 e 60 min, respectivamente. O aumento no grau de condensação ao longo do tempo está relacionado, como mostraram as demais análises, às reações de condensação que ocorrem no licor, principalmente.

5.4.3 Espectrometria de UV

Os espectros de absorção na região do UV para cada lignina são mostrados na Figura 5.19. Observa-se um comportamento típico de ligninas, com elevadas absorvidades para comprimentos de onda menores que 240 nm, um pico de máxima absorção em torno de 280 nm e uma região de absorção no intervalo de 310 – 380 nm.

Figura 5. 19 - Espectro de UV das ligninas Soda

Observa-se que as absorvidades diminuem em praticamente todo o espectro à medida que o tempo de reação se processa. Isso sugere que as modificações que ocorrem na lignina ao longo da reação geram estruturas reduzidas, que absorvem menos luz UV. Na região em torno de 280 nm, os picos de máxima absorção ocorrem em 285, 284, 284 e 285 nm, respectivamente, para as ligninas de 15, 45, 60 e 120 min. A tabela 5.18 mostra os valores da absorvidade de cada lignina a 280 nm, parâmetro utilizado em metodologias de quantificação de lignina solúvel.

Tabela 5. 18 – Coeficientes de extinção ϵ ($L.g^{-1}$) a 280 nm das ligninas Soda

Lignina	15 min	45 min	60 min	120 min
ϵ_{280} ($L.g^{-1}$)	21,51	22,05	20,71	17,75

5.4.4 Análise Termogravimétrica e Calorimétrica

A curva termogravimétrica da lignina de 60 min (TG) e sua derivada (DTG) são apresentadas na Figura 5.20. É possível perceber que o carvão residual a 800 °C representa aproximadamente 36% da massa inicial. Verifica-se ainda que a primeira etapa de degradação, relacionada principalmente à perda de água, ocorre até aproximadamente 156 °C, onde se inicia a termodegradação da lignina, com pico de máxima degradação a 347 °C.

Figura 5. 20 - Curva termogravimétrica (TG) das ligninas Soda e sua derivada (DTG)

A degradação se estende até temperaturas em torno de 600 °C e, acima dessa temperatura, não ocorrem perdas consideráveis de massa. A curva de calorimetria exploratória diferencial (DSC) é mostrada na Figura 5.21. Verifica-se um pico endotérmico a aproximadamente 92°C, correspondente à entalpia de desidratação do material. O pico exotérmico foi utilizado para determinar a temperatura de transição vítrea, T_g , da lignina, segundo metodologia descrita por Hatakeyama (1992), obtendo-se $T_g = 415,1$ °C.

Figura 5. 21 - Curva de DSC das ligninas Soda

A cinética de termodegradação foi analisada conforme descrito no item 5.2.7 e o modelo da Equação 5.17 ajustado aos dados da Figura 5.20. O ajuste é exibido na Figura 5.22, com coeficiente de correlação $R^2 = 0,9615$. Os parâmetros ajustados do modelo encontram-se na tabela 5.19.

$$\ln \frac{\beta F(z)}{T^2} = \ln \frac{k_0 R}{E_a} - \frac{E_a}{RT} \quad (5.17)$$

Figura 5. 22 - Representação da linearização do modelo cinético para a lignina Soda 60 min

Tabela 5. 19 - Parâmetros cinéticos da termodegradação da lignina Soda

Material	<i>n</i>	<i>Ea</i>	<i>k</i>₀	<i>R</i>²
Lignina 60 min	1,11	12,73 kJ/mol	0,4195 min ⁻¹	0,9615

Percebe-se que a energia de ativação é menor para a lignina de 60 minutos em relação à de acidólise. Tal fato é explicado pela presença de carboidratos na lignina precipitada do licor soda. Estes se decompõem termicamente com energias de ativação menores e sua decomposição ocorre principalmente entre 150 e 450 °C (KIM et al., 2014)

5.5 Caracterização das ligninas de palha que sofreram pré-tratamentos

A Tabela 5.20 mostra a composição das polpas obtidas nos tratamentos e após a etapa de deslignificação. Verifica-se que o pré-tratamento por explosão a vapor promove uma redução bastante considerável no conteúdo de hemiceluloses. O mesmo ocorre para o pré-tratamento ácido, que solubiliza uma grande fração hemicelulósica e promove a dissolução de uma pequena parte da lignina.

Tabela 5. 20 - Composição química das polpas após os pré-tratamentos e deslignificação

	sem Pré-tratamento		Explosão a Vapor		Pré-tratamento Ácido	
	Palha	Soda 1% 1h	Após PT	Após deslignificação	Após PT	Após deslignificação
Celulose (%)	41,67	61,09	47,91	75,44	55,11	74,61
Hemicelulose (%)	29,74	21,15	12,6	11,27	13,74	10,19
Lignina (%)	24,98	11,91	37,31	10,63	27,91	11,47
Cinzas (%)	3,19	1,69	1,42	1,83	1,93	2,03
Total	99,58	95,84	99,24	99,17	98,69	98,3

As hemiceluloses recobrem as microfibrilas de celulose e seus grupos acetil promovem um impedimento estérico contra o ataque enzimático (SIERRA et al., 2008). As hemiceluloses menos ramificadas podem formar ligações de hidrogênio com a superfície das fibrilas de celulose, enquanto que as mais ramificadas podem se ligar covalentemente à lignina, formando os complexos lignina-carboidrato (CLC). A hidrólise das hemiceluloses e a clivagem dos CLCs podem levar a um aumento significativo na digestibilidade enzimática da celulose (MOSIER et al., 2005), aumentando a porosidade e a área superficial da celulose (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009).

5.5.1 Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier

Após a etapa de deslignificação alcalina das polpas que passaram por pré-tratamento, as ligninas precipitadas em meio ácido foram caracterizadas e serão denominadas Lignina Explosão a Vapor e Lignina PT Ácido.

Os espectros de FTIR das ligninas são mostrados nas Figuras 5.23 e 5.24. Os espectros foram normalizados no pico a 1510 cm^{-1} e comparados com o espectro da lignina soda de 60 minutos, visando verificar as modificações estruturais que cada pré-tratamento promove na lignina.

Uma diferença observada nos espectros da Figura 5.23 ocorre na região de $1750 - 1580\text{ cm}^{-1}$, correspondente às carbonilas e carboxilas conjugadas e não-conjugadas e também ligações C=C. Verifica-se que, na lignina de Explosão a Vapor, a redução dos grupos carbonila e carboxila ocorre de forma mais pronunciada. Tal fato foi estudado por Bardet et al. (1985), que verificaram que o ácido p-hidroxibenzóico é o principal produto da fração solúvel em éter de lignina de faia (*Populus tremuloides*) tratada por explosão a vapor. Estes autores atribuíram a presença de ácido p-hidroxibenzóico à hidrólise das ligações éster da lignina e propuseram que tanto este ácido quanto o ácido acético, proveniente dos grupos acetil hemicelulósicos, promovem reações catalisadas por ácido durante o tratamento por explosão a vapor.

Figura 5. 23 - Espectros de FTIR da lignina Soda e da lignina Explosão a Vapor

O mesmo comportamento é observado para a lignina obtida por pré-tratamento ácido, que apresenta as menores absorbâncias na região das carbonilas e carboxilas ($1750\text{ a }1580\text{ cm}^{-1}$). Neste processo, a hidrólise das ligações éster ocorre catalisada pelo ácido sulfúrico. Tal fato é mais acentuado em ligninas de gramíneas, que possuem um grande teor de grupos feruil, que sofrem hidrólise gerando fragmentos de ácido ferúlico no licor.

Figura 5. 24 - Espectros de FT-IR da lignina Soda e da lignina PT Ácido

Tanto no pré-tratamento ácido quanto na explosão a vapor, a degradação da lignina por meio da hidrólise da ligação β -O-4 ocorre simultaneamente às reações de condensação. Isso porque essas reações ocorrem via formação de um carbocátion, o íon carbônio, que é formado pelo álcool benzílico da estrutura da lignina (LI et al, 2007). Nas ligações do tipo β -O-4, o intermediário principal reage mais adiante com a clivagem das ligações éter e com fragmentos de lignina. Qualquer anel aromático adjacente a um carbono rico em elétrons pode competir com o íon carbônio e ligações estáveis C-C podem ser formadas (NASCIMENTO, 2007). A Figura 5.25 mostra o esquema dessa competição.

Figura 5. 25 - Competição entre a clivagem de ligações β -O-4 e a condensação em meio ácido. Fonte: Adaptado de Li, Henriksson e Gellerstedt (2007)

5.5.2 Análise Elementar e Poder Calorífico Superior

Os resultados da análise elementar CHNSO e Poder Calorífico Superior (PCS) das ligninas de pré tratamento são exibidos nas tabelas 5.21 e 5.22. Verificam-se elevados teores de carbono para essas ligninas em relação àquela que não sofreu pré-tratamento (54,96%). Isso se deve principalmente ao fato das ligninas de pré-tratamento apresentarem menor teor de açúcar residual, uma vez que, durante os pré-tratamentos, ocorrem reações de hidrólise ácida dos carboidratos, catalisadas pelo H_2SO_4 ou pelos ácidos liberados no licor.

Tabela 5. 21 - Composição elementar das ligninas de palha que sofreram pré-tratamentos

Material	%C	%H	%O	%N	%S
Lignina Explosão a Vapor	59,36 ± 0,11	5,42 ± 0,03	32,52	1,82 ± 0,43	0,88 ± 0,14
Lignina PT Ácido	61,74 ± 0,11	5,74 ± 0,02	30,2	1,52 ± 0,33	0,81 ± 0,13

Tabela 5. 22 - Poder Calorífico Superior das ligninas de palha que sofreram pré-tratamentos

Material	Lignina Explosão a Vapor	Lignina PT Ácido
PCS (J/g)	24420	25395

O teor de açúcar residual nas ligninas foi avaliado por meio da determinação dos teores de lignina Klason e lignina solúvel no licor de hidrólise, como mostra a tabela 5.23. Como pode ser percebido, as ligninas de pré-tratamento apresentam um alto teor de material considerado lignina (Klason + solúvel > 96%) e, portanto, serão consideradas como não contaminadas por carboidratos.

Tabela 5. 23 - Conteúdo de lignina Klason e solúvel no licor de hidrólise

Material	Lignina Klason (%)	Lignina solúvel (%)
Lignina Explosão a Vapor	84,2 ± 1,4	13,6 ± 0,8
Lignina PT Ácido	88,9 ± 2,3	9,7 ± 1,1

Como foi feito para as demais ligninas, os teores de nitrogênio e enxofre foram desconsiderados. Assim, os teores de carbono, hidrogênio e oxigênio são distribuídos conforme mostra a tabela 5.24

Tabela 5. 24 - Composição elementar das ligninas de palha que sofreram pré-tratamento

Material	%C	%H	%O
Lignina Explosão a Vapor	61,01	5,57	33,42
Lignina PT Ácido	63,21	5,88	30,91

5.5.3 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons

Os espectros de ^1H RMN das ligninas de pré-tratamento são mostrados na Figura 5.26. A solubilidade dessas ligninas em CDCl_3 foi de cerca de 67 e 75% para a lignina Explosão a Vapor e para a lignina PT Ácido, respectivamente. A elevada solubilidade se deve ao fato dessas ligninas não apresentarem carboidratos como contaminantes e, portanto, os espectros mostrados na Figura 5.26 podem ser considerados representativos.

Figura 5. 26 - Espectros de ^1H RMN das ligninas de palha que sofreram pré-tratamentos

A análise elemental contida na tabela 5.24 foi usada na determinação das fórmulas C9 de cada lignina, $\text{C}_9\text{H}_{7,77}\text{O}_{3,05}(\text{OCH}_3)_{1,10}$ para a lignina Explosão a Vapor e $\text{C}_9\text{H}_{7,21}\text{O}_{2,35}(\text{OCH}_3)_{1,51}$ para a lignina PT Ácido. As atribuições de sinal foram feitas como demonstrado no item 5.2.3 e os resultados são exibidos na tabela 5.25

Tabela 5. 25 - Dados da integração dos sinais de ^1H RMN das ligninas de palha que sofreram pré-tratamento

Região (ppm)	Atribuição	Explosão a Vapor	PT Ácido
		$\text{C}_9\text{H}_{7,77}\text{O}_{3,05}(\text{OCH}_3)_{1,10}$	$\text{C}_9\text{H}_{7,21}\text{O}_{2,35}(\text{OCH}_3)_{1,51}$
9,00 - 12,00	Ácidos carboxílicos e aldeídos	0,06	0,18
6,25 - 7,90	Região dos Aromáticos	1,59	2,12
5,75 - 6,25	Prótons benzílicos não cíclicos	0,17	0,18
5,20 - 5,75	Prótons benzílicos cíclicos	0,27	0,13
3,95-5,20 e 2,5-3,55	Prótons alifáticos	2,70	1,50
3,55 - 3,95	Metoxilas	4,51	3,29
2,20 - 2,50	Prótons acetoxílicos aromáticos	0,62	0,83
1,60 - 2,20	Prótons acetoxílicos alifáticos	0,88	0,52
< 1,60	Região de alifáticos não oxigenados	0,92	2,23

É possível verificar na tabela 5.25 que tanto a lignina de explosão a vapor quanto a de pré-tratamento ácido apresentaram teores muito pequenos de hidrogênios na região dos ácidos carboxílicos e aldeídos (9 – 12 ppm). Isso porque durante os pré-tratamentos ocorrem reações de hidrólise dos grupos éster e tal comportamento também foi verificado na análise de infravermelho. Esses resultados mostram que os pré-tratamentos aplicados, em associação à polpação Soda, são bastante eficientes na hidrólise dos complexos lignina-carboidrato. As fórmulas C9 completas para cada lignina são mostradas na tabela 5.26

Tabela 5. 26 - Fórmulas C9 para as ligninas de palha que sofreram pré-tratamentos

Lignina	Fórmula
Lignina Explosão a Vapor	$\text{C}_9\text{H}_{1,59}^{\text{ar}}\text{H}_{4,12}^{\text{al}}\text{O}_{0,84}(\text{OH})_{0,61}^{\text{ph}}(\text{OH})_{0,88}^{\text{al}}(\text{OCH}_3)_{1,51}$
Lignina PT Ácido	$\text{C}_9\text{H}_{2,12}^{\text{ar}}\text{H}_{4,23}^{\text{al}}\text{O}_{1,64}(\text{OH})_{0,83}^{\text{ph}}(\text{OH})_{0,58}^{\text{al}}(\text{OCH}_3)_{1,10}$

Como pode ser visto na tabela 5.26, a lignina de pré-tratamento ácido apresentou elevado teor de hidroxilas fenólicas. Isso é explicado principalmente devido à clivagem das ligações aril éter em estruturas $\beta\text{-O-4}$, liberando grupos fenólicos.

O grau de condensação das ligninas foi determinado a partir dos dados da tabela 5.25 e os valores encontrados foram de 25% e 36% para as ligninas de explosão a vapor e pré-tratamento ácido, respectivamente. Verifica-se uma maior condensação na lignina PT Ácido, uma vez que no pré-tratamento por explosão a vapor o ácido que catalisa as reações de condensação vem somente da liberação dos grupos acetil das hemiceluloses.

5.5.4 Espectrometria de UV-visível

A Figura 5.27 mostra os espectros de absorção na região do UV para as ligninas pré-tratadas. Tratam-se de espectros típicos de lignina com elevadas absorções de 220 a 240 nm, um ombro em torno de 250 e uma região de absorção entre 280 e 320 nm.

Figura 5. 27 - Espectros de UV das ligninas de palha que sofreram pré-tratamentos

Os valores dos coeficientes de extinção a 280 nm para as ligninas de explosão a vapor e pré-tratamento ácido são, respectivamente, 24,2 e 23,3 L.g⁻¹.

5.5.5 Análise Termogravimétrica e Calorimétrica

A Figura 5.28 mostra a curva termogravimétrica das ligninas que sofreram pré-tratamentos ácido e por explosão a vapor.

Figura 5. 28 - Curvas termogravimétricas (TG) das ligninas que sofreram pré-tratamento e suas derivadas (DTG)

Verifica-se que o carvão residual a 800 °C representa 36% da massa total para a lignina PT Ácido, enquanto que para a lignina Exp Vapor, o resíduo representa 45% do total. O pico de máxima degradação ocorre a 363 e 352°C para as ligninas PT Ácido e Exp Vapor, respectivamente. A degradação se estende até temperaturas em torno de 550 °C.

Figura 5. 29 – Curvas de DSC das ligninas que sofreram pré-tratamentos

A curva calorimétrica é exibida na Figura 5.29. As temperaturas de transição vítrea das ligninas foram determinadas segundo metodologia descrita por Hatakeyama (1992), obtendo-se os valores de 411 e 435 °C para as ligninas PT Ácido e Exp Vapor, respectivamente.

Figura 5. 30 - Representação da linearização do modelo cinético para as ligninas que sofreram pré-tratamentos.

A cinética de termodegradação foi analisada ajustando-se o modelo da Equação 5.17 aos dados pelo método dos Mínimos Quadrados. Os ajustes são exibidos na Figura 5.29. A tabela 5.27 apresenta os parâmetros cinéticos de cada caso.

Tabela 5. 27 – Parâmetros cinéticos da termodegradação das ligninas que sofreram pré-tratamentos

Lignina	<i>n</i>	<i>Ea</i> (kJ.mol ⁻¹)	<i>k₀</i> (min ⁻¹)	<i>R</i> ²
PT Ácido	1,06	12,64	0,3392	0,9704
Exp Vapor	1,03	10,06	0,3357	0,9443

6. Considerações Finais

A palha de cana apresenta em sua composição 41,67% de celulose, 29,74% de hemiceluloses, 24,98 % de lignina e 3,19% de cinzas inorgânicas. Trata-se de uma biomassa com um elevado teor de xilanas (cerca de 80% do total de hemiceluloses), apresentando potencial para aplicação em processos bioquímicos de utilização de xiloses. A fração de lignina solúvel em meio ácido representa cerca de 12,6 % do total de lignina. Essa fração representa, principalmente, estruturas de baixa massa molar e está relacionada à formação de inibidores de fermentação durante os processos de tratamento.

O processo de acidólise branda da palha de cana é capaz de isolar uma porção de lignina representativa, apresentando um rendimento de extração de cerca de 74 %. A representatividade dessa lignina está relacionada às condições de extração (EVTUGUIN et al., 2001), nas quais o licor é renovado a cada 30 minutos de reação, reduzindo a incidência de reações de condensação na fase líquida, diferente de outros processos de obtenção de ligninas dioxano onde as extrações ocorrem por tempos mais elevados.

O espectro de FT-IR da lignina de acidólise apresentou bandas de absorção típicas de ligninas HGS e a análise elementar e do espectro de ^1H RMN permitiram determinar a fórmula C9 desta lignina: $\text{C}_9\text{H}_{8,21}\text{O}_{3,12}(\text{OCH}_3)_{1,11}$, que apresentou cerca de 20% de condensação – ligações C-C nos carbonos 2, 3, 5 e 6, principalmente 5-5', β -5' e β -1 – e relação H:G:S de 1 : 3,22 : 3,68. A análise por cromatografia de permeação em gel mostrou que esta lignina tem massa molar média de 1908 Da e polidispersidade 3,15, apresentando, em média, 9,5 estruturas C9 por molécula.

A deslignificação da palha pelo processo soda foi eficiente na remoção de lignina da matriz, apresentando um produto final (polpa) contendo 11,91% de lignina após 60 minutos de reação a 100 °C. A deslignificação nesta temperatura ocorre segundo uma taxa de $0,0119 \text{ min}^{-1}$.

O resíduo precipitado do licor alcalino, denominado lignina soda, apresentou após 60 minutos de reação a composição elementar de 55,6% de carbono, 5,77% de hidrogênio, 35,02% de oxigênio, 2,42% de nitrogênio e 0,77% de enxofre. As análises de FT-IR e ^1H RMN evidenciaram que, durante polpação soda, o grau de condensação da lignina aumenta e que a condição mais severa com 5% de NaOH promove modificações mais profundas sugerindo maior degradação da lignina. Essas análises evidenciaram também o rompimento das ligações entre a lignina e carboidratos, verificados na região das carbonilas e carboxilas, principalmente. Tal comportamento foi verificado pela análise elementar e pelo teor de lignina Klason. Entretanto, mesmo depois de 60 min, a lignina precipitada do licor ainda apresentava cerca de 17 % de carboidratos.

Quanto aos processos de pré-tratamento, as polpas soda obtidas que sofreram pré-tratamentos prévios apresentaram um menor teor de lignina e maior solubilização de hemiceluloses, sugerindo que esses processos permitem a obtenção de polpas com um teor mais elevado de celulose. Contudo, a avaliação da viabilidade desses tratamentos requer estudos mais minuciosos sobre as modificações estruturais, perdas de massa e rendimento desses processos, como o trabalho em andamento de Mori (2010).

As ligninas que sofreram pré-tratamentos apresentaram baixo teor de açúcares, indicando que esses processos, em combinação com a polpação soda, promovem uma hidrólise eficiente dos complexos lignina-carboidratos, gerando um licor rico em xilanas e um resíduo com elevado teor de lignina. O rompimento das ligações entre a lignina e os carboidratos também foi evidenciado nos espectros de FT-IR e ^1H RMN.

As tabelas 6.1 e 6.2 apresentam uma síntese dos principais parâmetros determinados neste trabalho para as diferentes ligninas estudadas.

Tabela 6. 1 - Parâmetros estruturais e poder calorífico superior das ligninas obtidos neste trabalho

Lignina	Composição Elementar			PCS kJ.g^{-1}	Condensação %	Fórmula C9						ϵ_{280} L.g^{-1}
	%C	%H	%O			H^{ar}	H^{al}	O	OH^{PH}	OH^{al}	OCH_3	
Acidólise	60,46	5,77	33,76	23,72	20	2,31	4,14	1,27	0,58	1,19	1,11	26,03
Soda 15 min	53,57	5,34	41,9									21,51
*	58,89	4,87	36,24		12	2,42	3,04	2,53	0,76	0,2	1,24	
Soda 45 min	54,4	5,67	39,93									22,05
*	58,63	5,41	35,89		35	1,86	4,87	2,28	0,73	0,49	1,15	
Soda 60 min	57,69	5,98	36,33	25,14								20,71
*	60,27	5,96	33,77		44	1,47	5,15	1,73	0,64	0,95	1,36	
Exp Vapor	61,01	5,57	33,42	24,42	25	1,59	4,12	0,84	0,61	0,88	1,51	24,2
PT Ácido	63,21	5,88	30,91	25,4	26	2,12	4,23	1,64	0,83	0,58	1,1	23,3

* teor de carboidratos descontado

Tabela 6. 2 - Parâmetros das análises térmicas das ligninas obtidos neste trabalho

Lignina	Temp de máx degradação ($^{\circ}\text{C}$)	% carvão residual	Ea kJ.mol^{-1}	k_0 min^{-1}	Tg $^{\circ}\text{C}$
Acidólise	351	42	13,8	0,4799	418,4
Soda 60 min	347	36	12,73	0,4195	415,1
Exp Vapor	352	45	10,06	0,3357	435
PT Ácido	363	36	12,64	0,3392	411

A análise dessas tabelas nos permite verificar as modificações estruturais ocorridas nas ligninas nos diversos processos. Na fórmula C9, observam-se diferenças nos teores de hidroxilas fenólicas, a lignina de acidólise apresenta o menor valor, indicando que os processos de polpação e pré-tratamentos promovem um aumento nos grupos terminais na molécula de lignina e esse

aumento pode ocorrer com ou sem redução na massa molar, uma vez que as reações de condensação também podem interferir nesse parâmetro.

Tomando a lignina de acidólise como padrão, o teor de hidrogênios aromáticos está diretamente relacionado à reticulação promovida pelas reações de condensação enquanto o teor de hidrogênios alifáticos nos fornece informações sobre a magnitude das modificações estruturais. Quanto às metoxilas, a lignina Exp Vapor e a lignina Soda 60 min foram as que apresentaram maior conteúdo dessas estruturas, indicando que essas ligninas podem ter sofrido menos desmetoxilação durante o isolamento ou que a fração isolada nesses processos se apresenta com mais estruturas do tipo G e S do que H.

Dos dados contidos na tabela 6.2, verifica-se que, para as ligninas soda e de pré-tratamentos, a temperatura de máxima degradação é inversamente proporcional ao teor de carboidratos na lignina. A lignina de explosão a vapor se mostrou como aquela que possui maiores diferenças nos parâmetros da análise térmica, apresentando os menores valores de energia de ativação e fator pré-exponencial e os maiores valores temperatura de transição vítrea e percentual de carvão residual.

A respeito do poder calorífico das ligninas e dentro do conceito de biorrefinaria, que envolve o aproveitamento total das frações de biomassa, os parâmetros determinados neste trabalho em conjunto com dados disponíveis na literatura podem fornecer informações para alimentar uma breve análise energética dos processos de polpação e pré-tratamentos. Para isso, propõe-se a determinação do parâmetro HP, que representa potencial para conversão em energia térmica a partir da lignina por massa de material, podendo o material ser palha (Equação 6.1) ou até mesmo a própria cana (Equação 6.2).

$$HP = \%_{LIG} * PCS_{LIG} * Y_{LIG} \quad (6.1)$$

$$HP = \%_{PALHA} \%_{LIG} * PCS_{LIG} * Y_{LIG} \quad (6.2)$$

Onde

$\%_{LIG}$ = fração de lignina na palha (%)

$\%_{PALHA}$ = percentual de palha na cana (aproximadamente 14% em base seca)

PCS_{LIG} = poder calorífico superior da lignina em questão (MJ.kg⁻¹)

Y_{LIG} = Rendimento da extração de lignina (%)

Neste trabalho não se determinou a perda de massa nos tratamentos. Entretanto, Miléo (2011) estudou a explosão a vapor de palha de cana seguida de polpação alcalina, obtendo um valor de Y_{LIG} de aproximadamente 80%. Assim, utilizando-se os dados deste trabalho e o dado de

Miléo (2011), o parâmetro HP da lignina Exp Vapor é de $4,88 \text{ MJ.kg}^{-1}$ de palha ou $0,68 \text{ MJ.kg}^{-1}$ de cana. Isso significa que 1 kg de palha de cana, nas condições de explosão a vapor e polpação soda deste trabalho, tem potencial para produzir polpa celulósica (que pode ser convertida em etanol ou outros produtos), açúcares fermentescíveis provenientes das hemiceluloses e ainda 4,88 MJ de energia, maximizando assim o valor agregado à cana-de-açúcar. A sugestão para trabalhos futuros é melhor analisar o poder calorífico das ligninas de diferentes tratamentos juntamente com os rendimentos das frações separadas em cada processo. Com isso, contribui-se para o entendimento do papel da lignina dentro do conceito de biorrefinaria, de aproveitamento integral dos constituintes dos materiais lignocelulósicos.

Referências

ADLER, E. Lignin chemistry—past, present and future. **Wood Science and Technology**, v. 11, p. 169 – 218, 1977.

ALMEIDA, M. B. B. **Bio-óleo a partir da pirólise rápida, térmica ou catalítica da palha da cana-de-açúcar e seu co-processamento com gasóleo em craqueamento catalítico**. 2008. 149f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro. Escola de Química. Rio de Janeiro. 2008.

ALVIRA,P.; TOMÁS-PEJÓ,E; BALLESTEROS, M.; NEGRO,M.J. Pretreatment Technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n.13, p. 4851 – 4861, 2010.

ARGYROPOULOS, D.S.; MENACHEM, S.B. In: KAPLAN, D.L. (Ed.), **Biopolymers from Renewable Resources**. Berlin: Springer, p. 292, 1998.

AZUMA, J., KOSHIMJIMA, T. Lignin–carbohydrate complexes from various sources. **Methods in Enzymology**, v. 161, p. 12–18, 1988.

BALAN, V.; SOUSA, L.D.; CHUNDAWAT, S.P.S.; MARSHALL, D.; SHARMA, L.N.; CHAMBLISS, C.K. Enzymatic digestibility and pretreatment degradation products of AFEX-treated hardwoods (*Populus nigra*). **Biotechnology Progress**, v. 25, p. 365 – 375, 2009.

BARDET, M.; ROBERT, D.; LUNDQUIST, K. On the reactions and degradation of the lignin during steam hydrolysis of aspen wood. **Svensk Papperstin**, v.6, p. 61-67, 1985.

BAUCHER, M.; MONTIES, B.; VAN MONTAGU, M.; BOERJAN, W. Biosynthesis and genetic engineering of lignin. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 17, p. 125–197, 1998.

BERTONCINI, E. I. In: WORKSHOP: Aspectos ambientais da cadeia do etanol de cana-de-açúcar. Painel IV: Geração de Resíduos da Indústria da Cana-de-açúcar, 2008. Disponível em: <http://www.apta.sp.gov.br/cana>. Acesso em 17 de agosto de 2008.

BOERIU, C. G.; BRAVO, D.; GOSSELINK, R. J. A.; VAN DAM, J. E. G. Characterization of structure-dependent functional properties of lignin with infrared spectroscopy. **Industrial Crops and Products**, v. 20, p. 205-218, 2004.

BRASILAGRO. Notícias do Agronegócio – BrasilAGRO, 2012. Disponível em <http://www.brasilagro.com.br/index.php/noticias/detalhes/12/42614>. Acesso em 29/03/2012.

BREBU, M.; Vasile, C. Thermal degradation of lignin - a review. **Cellulose Chemistry and Technology**, v. 44, p. 353 – 363, 2009.

BROWNELL, H.H.; YU, E.K.C.; SADDLER, J. N. Steam-explosion pretreatment of wood: Effect of chip size, acid, moisture content and pressure drop. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 28, p. 792-801, 1986.

BURANOV, A. U.; MAZZA, G. Lignin in straw of herbaceous crops. **Industrial Crops and Products**, v. 28, p. 237-259, 2008.

CANILHA, L. ; CARVALHO, W. ; FELIPE, M.G.A. ; ALMEIDA e SILVA, J.B. ; GIULIETTI, M. . Ethanol production from sugarcane bagasse hydrolysate using *Pichia stipitis*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 161, p. 84-92, 2010.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; ROCHA, G. J. M.; SILVA, J. B. A.; GIULIETTI, M. Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar in natura extraído com etanol ou ciclohexano/etanol. In: ABQ – RN, 2007, Natal. **Anais eletrônicos...** Disponível em <[HTTP://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/11/11-570-713.htm](http://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/11/11-570-713.htm)>. Acesso em 18/04/2014.

CARRIER, M.; LOPPINET-SERANI, A.; DENUX, D.; LASNIER, J.; HAM-PICHAVENT, F.; CANSSELL, F. Thermogravimetric analysis as a new method to determine the lignocellulosic composition of biomass. **Biomass Bioenergy**, v. 35, p. 298-307, 2011.

CARVALHO, D. M. **Caracterização físico-química e polpação etanol/soda do bagaço e da palha de cana-de-açúcar**. 2012. 150f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Viçosa, 2012.

CHEN, X.W.; LAWOKO, M.; VAN HEININGEN, A. Kinetics and mechanism of autohydrolysis of hardwoods. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 7812–7819, 2010.

CHEN, C. L.; ROBERT, D. Characterization of lignin by ¹H and ¹³C NMR Spectroscopy. In: WOOD, W. A.; KELLOG, S. T. (Eds). **Methods in Enzimology**, New York: Academic Press, p. 137, 1988.

CHESSON, A. Mechanistic models of forage cell wall degradation. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HARTFIELD, R.D.; RALPH, J. (Eds.), **Forage Cell Wall Structure and Digestibility**. Madison: Am. Soc. Agronomy Inc., p. 347–376, 1993.

CHONGCHONG, Y.; YIN, M.; ZHANG, N.; JIN, Q.; FANG, Z.; LIN, Y.; CAI, Y. Stone cell distribution and lignin structure in various pear varieties. **Scientia Horticulturae**, v. 174, p. 142-150, 2014.

COATS, A.W.; REDFERN, J.P. Kinetic parameters from thermogravimetric data. **Nature**, v. 201, p. 68-79, 1964.

COLLIER, W.; KALASINSKY, V.; SCHULZ, T. Infrared study of lignin: reexamination of arylealkyl ether CeO stretching peak assignment. **Holzforschung**, v. 46, p. 523-528, 1997.

COLTHUP, N.; DALY, L.; WIBERLEY, S. **Introduction to infrared and Raman spectroscopy**. London: Academic Press Limited, 1990.

CONVERSE, A. O.; WARE, W. On the reactivity of cellulosic substrates in enzymatic hydrolysis. In: IEA/BIOFOR – WORKSHOP ON APPLICATIONS OF BIOTECHNOLOGY IN BIOENERGY SYSTEMS, 1994, Ottawa. Canada.

CPT, 2011. CENTRO DE PRODUÇÕES TÉCNICAS. **Palha de cana-de-açúcar reduz as emissões de gás carbônico**, 2011. Disponível em <http://www.cpt.com.br/noticias/palha-de-cana-de-acucar-reduz-em-20-as-emissoes-de-gas-carbonico>. Acesso em 22/03/2014.

CRESTINI, C.; ARGYROPOULOS, D.S. Structural analysis of wheat straw lignin by quantitative ³¹P and 2D NMR spectroscopy: the occurrence of ester bonds and β-O-4 substructures. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p. 1212–1219, 1997.

CTBE – CENTRO DE TECNOLOGIA DO BIOETANOL. Relatório Anual do Centro de Tecnologia do Bioetanol 2013. Disponível em <http://issuu.com/bioetanolctbe/docs/ctbe-relatorio-anual-2013>. Acesso em 09/07/2014.

DENG, L.; WANG, Y.; ZHANG, Y.; MA, R. The enhancement of ammonia pre-treatment on the fermentation of rice straw hydrolysate to xylitol. **Journal of Food Biochemistry**, v. 31, p. 195–205, 2007.

DIMMEL, D. Overview. In: HEITNER, C.; DIMMEL, D.; SCHMIDT, J. A. **Lignin and lignans: advances in chemistry**, London: CRC Press, p. 1-10, 2010.

EMELSY, A.; HEYWOOD, R. On the kinetics of degradation of cellulose. **Cellulose**, v. 4, p. 1–5, 1997.

EMMEL, A.; **Caracterização do efeito da explosão a vapor sobre as propriedades físico-químicas da lignina de *Eucalyptus grandis***. 141f. 1999. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

EVTUGUIN, D. V.; NETO, C. P.; SILVA, A.M.; DOMINGUES, P. M.; AMADO, F. M. L.; ROBERT, D.; FAIX, O. Comprehensive study on the chemical structure of dioxane lignin from plantation *Eucalyptus globulus* wood. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4252-4261, 2001.

FAIX, O. Classification of lignins from different botanical origins by FT-IR spectroscopy. **Holzforschung**, v. 45, p. 21-27, 1991.

FAIX, O. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In: LIN, S. Y, DENCE, C. W. **Methods in Lignin Chemistry**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1992

Faix, O.; Stevanovic-Janezic, T.; Lundquist, K. The lignin of diffuse porous angiosperm tree *Triplochyton scleroxylon* K. Schum with low syringylpropane content. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 14, p. 263–278, 1994.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood – Chemistry, Ultrastructure, Reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1989.

FORD, C.W. Borohydride-soluble lignin–carbohydrate complex esters of p-coumaric acid from the cell walls of a tropical grass. **Carbohydrate Research**, v. 201, p. 299–310, 1990.

FREUDENBERG, K. Biosynthesis and constitution of lignin. **Nature**, v.183, p. 1152–1155, 1959.

GALKIN, S.; ÄMMÄLAHTI, E.; KILPELÄINEN, I.; BRUNOW, G.; HATAKKA, A. Chracterization of milled wood lignin from Reed Canary grass (*Phalaris aruncinacea*). **Holzforschung**, v. 51, p. 130–134, 1997.

GHAFFAR, S. H.; FAN, M. Sctructural analysis for lignin characteristics in biomass straw. **Biomass and Bioenergy**, v. 57, p. 264-279, 2013.

GILARRANZ, M.; RODRÍGUEZ, F.; OLIET, M.; GARCÍA, J.; ALONSO, V. Phenolic OH group estimation by FTIR and UV spectroscopy - Application to organosolv lignins. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 21, p. 387-395, 2001.

GLASSER W. Classification of lignin according to chemical and molecular structure. In: GLASSER, W.; NORTHEY, R.; SCHULTZ. T. (Ed). **Lignin: historical, biological, and materials perspectives**. ACS Symposium Series No. 742. Washington: American Chemical Society, p. 216-238, 2000.

GLASSER, W. G.; SARKANEN, S. **Lignin: Properties and materials**. Washington: American Chemical Society, 1989.

GOLDSCHMIDT, O. Ultraviolet Spectra. In: SARKANEN, K. V.; LUDWIG, C. H, (Ed). **Lignins: Occurrence, Formation, Structure and Reactions**. Oxford: Wiley-Interscience, p. 241-266, 1971.

GOMIDE, J. L.; COLODETTE, J. L.; OLIVEIRA, R. C.; SILVA, C. M. Caracterização tecnológica para produção de celulose da nova geração de clones de Eucalyptus do Brasil. **Revista Árvore**. v. 29, p. 129-137, 2005.

GONÇALVES, A. R.; SCHUCHARDT, U.; BIANCHI, M. L.; CURVELO, A. A. S. Piassava Fibers (*Attalea funifera*): NMR Spectroscopy of their Lignin. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 5, p. 491-494, 2000.

GONÇALVES, A.R. **Oxidação de ligninas e modelos de lignina com oxigênio molecular em meio ácido**. 1995. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química – UNICAMP. Campinas, 1995.

GOUVEIA, E. R.; NASCIMENTO, R. T.; SOUTO-MAIOR, A. M.; ROCHA, G. J. M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1500-1503, 2009.

GRABBER, J.H.; QUIDEAU, S.; RALPH, J. p-Coumaroylated syringyl units in maize lignin: implications for ether cleavage by thioacidolysis. **Phytochemistry**, v. 43, n. 6, p. 1189–1194, 1996.

GUO, J.; LUA, A.C. Kinetic study on pyrolytic process of oil-palm solid waste using two-step consecutive reaction model. **Biomass and Bioenergy**, v. 20, p. 223-233, 2001.

HATAKEYAMA, H. Thermal Analysis. In: LIN, S. Y.; DENCE, C. W. **Methods in Lignin Chemistry**. Berlin Heidelberg : Springer-Verlag, 1992.

HATFIELD, R.; FUKUSHIMA, R. S. Can lignin be accurately measured? **Crop Science**, v. 45, p. 832-839, 2005.

HATFIELD, R.D.; RALPH, J.; GRABBER, J.H. Cell wall cross-linking by ferulates and dehydrodiferulates in grasses. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 403–407, 1999.

HEITNER, C.; DIMMEL, D. R.; SCHMIDT, J. A. **Lignin and lignans: advances in chemistry**. Boca Raton: CRC Press, 2010.

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

HENRIKSSON, G. Lignin. In EK, M.; GELLERSTEDT, G.; HENRIKSSON, G. **Wood chemistry and wood biotechnology**. Berlin: Walter de Gruyter, v.1, p. 121-146, 2009.

HENRIKSSON, G.; LENNHOLM, H. Cellulose and Carbohydrate Chemistry. In EK, M.; GELLERSTEDT, G.; HENRIKSSON, G. **Wood chemistry and wood biotechnology**. Berlin: Walter de Gruyter, v. 1, p. 71-100, 2009.

HIMMEL M.E.; DING S.Y.; JOHNSON D.K.; ADNEY W.S.; NIMLOS M.R.; BRADY J.W. Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production. **Science**, v. 315, p. 804–807, 2007.

HIMMELSBACH, D.S. Structure of forage cell walls (session synopsis). In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HARTFIELD, R.D.; RALPH, J. (Ed) **Forage Cell Wall Structure and Digestibility**. American Society of Agronomy Inc, Madison, p. 271–283, 1993.

HORST, D. J. **Avaliação da produção energética a partir de ligninas contidas em biomassas**. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2013

HU, F.; RAGAUSKAS, A. Pretreatment and lignocellulosic chemistry. **BioEnergy Research**, v. 5, p. 1043-1066, 2012.

IMPrensa OFICIAL, 2003. Decreto no 47.700, de 11 de março de 2003. Disponível em <http://www.imprensaoficial.com.br>. Acesso em 25 de janeiro de 2009.

ISHII, T. Structure and functions of feruloylated polysaccharides. **Plant Science**, v. 127, p. 111–127, 1997.

ISLAM A.; SARKANEN K. V. The isolation and characterization of the lignin of jute (*Corchorus capsularis*). **Holzforschung**, v. 47, p.123-132, 1993.

JAKAB, E.; FAIX, O.; TILL, F.; SZÉKELY, T. Thermogravimetry/mass spectrometry study of six lignins within the scope of an international round robin test. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 35, n. 2, p. 167-179, 1995.

JOFFRES, B.; LORENTZ, C.; VIDALIE, M.; LAURENTI, D.; QUOINEAUD, A. A.; CHARON, N.; DAUDIN, A.; QUIGNARD, A.; GEANTET, C. Catalytic hydroconversion of wheat straw soda lignin: Characterization of the products and the lignin residue. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 145, p. 167-176, 2014.

JUNG, S.; FOSTON, M.; SULLARDS, M.C.; RAGAUSKAS, A.J. Surface characterization of dilute acid pretreated *Populus deltoides* by ToF-SIMS. **Energy Fuel**, v. 24, p. 1347–1357, 2010.

KIM, J.; HWANG, H.; OH, S.; KIM, Y.; KIM, U.; CHOI, J. W. Investigation of structural modification and thermal characteristics of lignin after heat treatment. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 66, p. 57-65, 2014.

KULKARNI, N.; SHENDYE, A.; RAO, A. Molecular and biotechnological aspects of xylanases. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 23, p. 411-456, 1999.

LAUREANO-PEREZ, L.; TEYMOURI, F.; ALIZADEH, H.; DALE, B.E. Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 121, p. 1081–1099, 2005.

LAURICHESSE, S.; AVÉROUS, L. Chemical modification of lignins: Towards biobased polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 39, p. 1266-1290, 2014.

LAWOKO, M.; HENRIKSSON, G.; GELLERSTEDT, G. New method for quantitative preparation of lignin-carbohydrate complex from unbleached softwood Kraft pulp. **Holzforchung**, v. 57, p. 69–74, 2003.

LAWTHER, J. M.; SUN, R. C.; BANKS, W. B. Rapid isolation and structural characterization of alkali-soluble lignins during alkaline treatment and atmospheric refining of wheat straw. **Industrial Crops and Products**, v. 5, p. 97-105, 1996.

LEWIS, N.G.; YAMAMOTO, E. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. **Annual Review of Plant Biology**, v. 41, p. 455–496, 1990.

LI, J.; GELLERSTEDT, G. Improved lignin properties and reactivity by modifications in the autohydrolysis process of aspen wood. **Industrial Crops and Products**, v. 27, p.175–181, 2008.

LI, J.B.; HENRIKSSON, G.; GELLERSTEDT, G. Carbohydrate reactions during high-temperature steam treatment of aspen wood. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 125, p. 175–188, 2005.

LI, J.B.; HENRIKSSON, G.; GELLERSTEDT, G. Lignin depolymerization/repolymerization and its critical role for delignification of aspen wood by steam explosion. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 3061–3068, 2007.

LIN, S. Y.; DENCE, C. W. **Methods in lignin chemistry**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1992.

LIN, S. Y. Ultraviolet Spectrophotometry. In: LIN, S. Y.; DENCE, C. W. **Methods in lignin chemistry**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1992.

LIU, C.; WYMAN, C.E. The effect of flow rate of compressed hot water on xylan, lignin, and total mass removal from corn stover. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 42, p. 5409–5416, 2003.

LIU, C.G.; WYMAN, C.E. The effect of flow rate of very dilute sulfuric acid on xylan, lignin, and total mass removal from corn stover. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 43, p. 2781–2788, 2004.

LUNDQUIST, K. Proton (H^1) NMR Spectroscopy. In: LIN, S. Y.; DENCE, C. W. **Methods in lignin chemistry**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1992.

MARABEZI, K. **Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de lignina e holocelulose em amostras de bagaço e palha de cana-de-açúcar**. 2009. 142f. Dissertação (Mestrado em Ciências Físico-Químicas) – Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

MAZIERO, P. **Estudos topoquímicos durante obtenção de etanol a partir de celulose de bagaço e palha de cana-de-açúcar**. 2013. 171f. Tese (Doutorado em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena – USP, Lorena, 2013.

McDOUGALL, G. J.; MORRISON, I. M.; STEWART, F.; WEYERS, J. D. B. R.; HILLMAN, J. R. Plant fibres: botany, chemistry and processing for industrial use. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 62, p. 1-20, 1993.

MILÉO, P. C. **Aplicações da celulose de palha de cana-de-açúcar: obtenção de derivados partindo de celulose branqueada e de biocompósitos com poliuretana a partir de óleo de mamona (*Ricinus communis* L.)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena – USP, Lorena, 2011.

MIURA, K.; MAKI, T. A simple method for estimating $f(E)$ and $k_0(E)$ in the distributed activation energy model. **Energy Fuels**, v. 12, p. 864–869, 1998.

MONTEIL-RIVERA, F.; PHUONG, M.; YE, M.; HALASZ, A.; HAWARI, J. Isolation and characterization of herbaceous lignins for applications in biomaterials. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 356-364, 2013.

MONTIES, B. Preparation of dioxane lignin fractions by acidolysis. **Methods in Enzymology**, v. 161, p. 31-35, 1988.

MOONEY, C.A.; MANSFIELD, S.D.; TOUHY, M.G.; SADDLER, J.N. The effect of initial pore volume and lignin content on the enzymic hydrolysis of softwoods. **Bioresource Technology**, v. 64, p. 113–119, 1998.

MORI, N. R. **Etanol Celulósico a partir da palha e do palhiço de cana-de-açúcar**: pré-tratamentos e conversão biotecnológica não convencionais. Projeto de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2010. Processo FAPESP 2010/20395-1.

MOROHOSHI, N. Chemical characterization of wood and its components. In: HON, D.N.S.; SHIRAISHI, N. (Ed) **Wood and cellulosic chemistry**. New York: Marcel Dekker, p. 331-394, 1991.

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

MOUSAVIOUN, P.; DOHERTY, W.O.S. Chemical and thermal properties of fractionated bagasse soda lignin. **Industrial Crops and Products**, v. 31, p. 52-58, 2010.

NAKAMURA, Y.; HIGUCHI, T. Ester linkage of p-coumaric acid in bamboo lignin. **Holzforschung**, v. 30, p. 187–191, 1976.

NASCIMENTO, R. A. A. **Caracterização da lignina de bagaço de cana pré-tratado por explosão a vapor**: Identificação dos compostos de degradação e reações envolvidas. 2007. Tese (Doutorado em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena - USP. Lorena. 2007

NAVIDI, W. **Probabilidade e estatística para ciências exatas**. New York: McGraw Hill, 2012.

ÖHREN, K.; BURA, R.; SADDLER, J.; ZACCHI, G. Effect of hemicellulose and lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 13, p. 2503–2510, 2007.

OLIVEIRA, F. C.; GONÇALVES, A. R. . Oxidized sugarcane bagasse and coffee husk lignin as compatibilizing agent for natural fiber reinforced thermoplastic composites. In: EUROPEAN BIOMASS CONFERENCE AND EXHIBITION (EU BC&E 2013), 21, **Proceedings**, p. 1570-1577, 2013.

OLIVEIRA, F. M. V.; PINHEIRO, I. O. ; SOUTO-MAIOR, A. M.; MARTIN, C.; GONÇALVES, A.R.; ROCHA, G. J. M. Industrial-scale steam explosion pretreatment of sugarcane straw for enzymatic hydrolysis of cellulose for production of second generation ethanol and value-added products. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 168-173, 2013.

OLIVEIRA, L.; EVTUGUIN, D.; CORDEIRO, N.; SILVESTRE, A. J. D. Structural characterization of stalk lignin from banana plant. **Industrial Crops and Products**, v. 29, p. 86-95, 2009.

PENG, J.; LU, F.; RALPH, J. The DFRC method for lignin analysis. Part 5. Isochroman lignin trimers from DFRC-degraded *Pinus taeda*. **Phytochemistry**, v. 50, p. 659–666, 1999.

RAGAUSKAS, A.J.; WILLIAMS, C.K.; DAVISON, B.H.; BRITOVSEK, G.; CAIRNEY, J.; ECKERT, C.A. The path forward for biofuels and biomaterials. **Science**, v. 311, p. 484–489, 2006.

RALPH, J.; LANDUCCI, L. NMR of lignins. In: HEITNER, C.; DIMMEL, D.; SCHMIDT, J. (Ed) **Lignin and lignans: advances in chemistry**, Boca Raton: CRC Press, p. 137-234, 2010.

RALPH, J. An unusual lignin from Kenaf. **Journal of Natural Products**, v. 59, p. 341–342, 1996.

RALPH, J. Lignin structure: recent developments. In: Brazilian Symposium Chemistry of Lignins and Other Wood Components, 6, 1999. Guaratingueta, Brazil. **Proceedings...** p. 97–112.

RALPH, J.; GRABBER, J.H.; HATFIELD, R.D. Lignin-ferulate crosslinks in grasses: active incorporation of ferulate polysaccharide esters into ryegrass lignins. **Carbohydrate Research**, v. 275, p. 167–178, 1995.

RALPH, J.; HATFIELD, R.D.; GRABBER, J.H.; JUNG, H.G.; QUIDEAU, S.; HELM, R.F. Cell wall cross-linking in grasses by ferulates and diferulates. In: Lewis, N.G.; Sarkanen, S. (Ed) **Lignin and Lignan Biosynthesis**. Washington: American Chemical Society, p. 209–236, 1998.

RALPH, J.; MARITA, J.M.; RALPH, S.A.; HATFIELD, R.D.; LU, F.; EDE, R.M.; PENG, J.; QUIDEAU, S.; HELM, R.F.; GRABBER, J.H.; KIM, H.; MACKAY, J.J.; SEDEROFF, R.R.; CHAPPLE, C.; BOUDET, A.M. Solution-state NMR of lignins. In: ARGYROPOULOS, D.S.; RIALS, T. (Ed) **Progress in lignocellulosics characterization**. Tappi Press, p. 55–108, 1999.

RAMOS e PAULA, L. E.; TRUGILHO, P. F.; NAPOLI, A.; BIANCHI, M. L. Characterization of residues from plant biomass for use in energy generation. **Cerne**, Lavras, v. 17, n. 2, p. 237-246, 2011.

RAMOS, L. P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 863-871, 2003.

ROCHA, G. J. M.; SILVA, F. T.; ARAÚJO, G. T.; CURVELO, A. A. S. A fast and accurate method for determination of cellulose and polyoses by HPLC. In: BRAZILIAN SYMPOSIUM ON THE CHEMISTRY OF LIGNIN AND OTHER WOOD COMPONENTS. 1997 **Anais**, v. 5.

ROCHA, G. J. M.; MARIN, C.; SILVA, V. F. N.; GÓMES, E. O.; GONÇALVES, A. R. Mass balance of pilot-scale pretreatment of sugarcane bagasse by steam explosion followed by alkaline delignification. **Bioresource Technology**, v. 111, p. 447-452, 2012.

ROSS, K.; LEUNG, A.; GODFREY, D.; MAZZA, G. Evaluation of thermal decomposition and antioxidant activity of crop residues and ionic liquid extracted lignin. **World Applied Sciences Journal**, v. 16, p. 160–178, 2012.

RUSSELL, J.B. Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH—anion accumulation versus uncoupling. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 73, p. 363–370, 1992.

SADDLER, J. N.; RAMOS, L. P.; BREUIL, C. In SADDLER, J. N. (Ed) **Bioconversion of Forest and Agricultural Plant Wastes**, C. A. B. International, p. 73, 1993.

SAIT, H. H.; HUSSAIN, A.; SALEMA, A. A.; ANI, F.N. Pyrolysis and combustion kinetics of date palm biomass using thermogravimetric analysis. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 382-389, 2012.

SCHUCHARDT, U.; RIBEIRO M. L.; GONÇALVES, A. R. A indústria petroquímica no próximo século: como substituir o petróleo como matéria-prima? **Química Nova**, v. 24, p. 247 – 251, 2001.

SEABRA, J. E. A. **Análise de opções tecnológicas para uso integral da biomassa no setor de cana-de-açúcar e suas implicações**. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2008.

SIERRA, R.; SMITH, A.; GRANDA, C.; HOLTZAPPLE, M.T. Producing fuels and chemicals from lignocellulosic biomass. **Chemical Engineering Progress**, v. 104, p. S10–S18, 2008.

SILVA, V. F.; ARRUDA, P.V.; FELIPE, M.G.; GONÇALVES, A.R.; ROCHA, G. J. M. Fermentation of cellulosic hydrolysates obtained by enzymatic saccharification of sugarcane bagasse pretreated by hydrothermal processing. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, p. 809-817, 2011.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7ª Ed. Rio de Janeiro: LTC. 2006.

SILVEY, S. D. **Optimal design**: an introduction to the theory for parameter estimation. London: Chapman and Hall, 1980.

STEPHENS, C.; WHITMORE, P.; MORRIS, H.; BIER, M. Hydrolysis of the amorphous cellulose in cotton-based paper. **Biomacromolecules**, v. 9, p. 1093–1099, 2008.

SUN, J.X.; SUN, X.F.; SUN, R.C.; FOWLER, P.; BAIRD, M.S. Inhomogeneities in the chemical structure of sugarcane bagasse lignin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, p. 6719–6725, 2003.

SUN, R.; LAWOTHER, J. M.; BANKS, W.B. A tentative chemical structure of wheat straw lignin. **Industrial Crops and Products**, v. 6, p. 01-08, 1997.

SUN, R.C.; SUN, X.F.; WANG, S.Q.; ZHU, W.; WANG, X.Y. Ester and ether linkages between hydroxycinnamic acids and lignins from wheat, rice, rye, and barley straws, maize stems, and fast-growing poplar wood. **Industrial Crops and Products**, v. 15, p. 179–188, 2002.

TAHERZADEH, M.J.; KARIMI, K. Process for ethanol from lignocellulosic materials I: acid-based hydrolysis processes. **Bioresources**, v. 2, p. 472–499, 2007.

TELEMAN, A. Hemicelluloses and Pectins. In EK, M.; GELLERSTEDT, G.; HENRIKSSON, G. **Wood chemistry and wood biotechnology**. Berlin: Walter de Gruyter, v.1, 2009.

UNICA, União da Indústria de Cana-de-açúcar. Disponível em www.unicadata.com.br. Acesso em 09/07/2014.

WANG, K.; JIANG, J.X.; XU, F.; SUN, R.C. Influence of steaming pressure on steam explosion pretreatment of Lespedeza stalks (*Lespedeza crytobotrya*): part 1. Characteristics of degraded cellulose. **Polymer Degradation and Stability**, v. 94, p. 1379–1388, 2009a.

WANG, K.; JIANG, J.X.; XU, F.; SUN, R.C. Influence of steaming explosion time on the physico-chemical properties of cellulose from Lespedeza stalks (*Lespedeza crytobotrya*). **Bioresource Technology**, v. 100, p. 5288–5294, 2009b.

WOOD, T. M.; SADDLER, J. N. Increasing the availability of cellulose in biomass materials. **Methods in Enzymology**, v. 160, p. 3–11, 1988.

WYMAN, C.E.; BALAN, V.; DALE, B.E.; ELANDER, R.T.; FALLS, M.; HAMES, B. Comparative data on effects of leading pretreatments and enzyme loadings and formulations on sugar yields from different switchgrass sources. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 11052–11062, 2011.

XU, F.; SUN, J.; SUN, R.; FOWLER, P.; BAIRD, M.S. Comparative study of organosolv lignins from wheat straw. **Industrial Crops and Products**, v. 23, p. 180–193, 2006.

XU, F.; JIANG, J.X.; SUN, R.C.; TANG, J.N.; SUN, J.X.; SU, Y.Q. Fractional isolation and structural characterization of mild ball-milled lignin in high yield and purity from *Eucommia ulmoides Oliv.* **Wood Science Technology**, v. 48, p. 211–226, 2008.

YAN, C.; YIN, M.; ZHANG, N.; JIN, Q.; FANG, Z.; LIN, Y.; CAI, Y. Stone cell distribution and lignin structure in various pear varieties. **Scientia Horticulturae**, v. 174, p. 142–150, 2014.

YANG, B.; WYMAN, C.E. BSA treatment to enhance enzymatic hydrolysis of cellulose in lignin containing substrates. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 94, p. 611–617, 2006.

YANG, Q.; WU, S.; LOU, R.; LV, GAOJIN. Analysis of wheat straw lignin by thermogravimetry and pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 87, p. 65–69, 2010.

ZHENG, Y.; PAN, Z.; ZHANG, R. Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. **International Journal of Agriculture and Biological Engineering**, v. 2, p. 51–68, 2009.